

# Kaliumpermeable Barrieremembran zur Anwendung in einem *in vivo* Sensor

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften

- Dr. rer. nat. -

Thorsten Pieper

geboren in Essen

Lehrstuhl für Technische Chemie II  
der  
Universität Duisburg-Essen

**Essen 2014**



Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von November 2010 bis März 2014 unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Mathias Ulbricht am Lehrstuhl für Technische Chemie II der Universität Duisburg-Essen angefertigt.

Tag der Disputation: 09. 09. 2014

Erstgutachter: Prof. Dr. Mathias Ulbricht

Zweitgutachter: Prof. habil. Dr.-Ing. Stephan Barcikowski

Vorsitzender: Prof. Dr. Oliver Schmitz

Hiermit bestätige ich, diese Arbeit nur mit den angegebenen Hilfsmitteln und ohne fremde Hilfe angefertigt zu haben. Des Weiteren wurde die Arbeit in dieser oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Universität eingereicht.

Thorsten Pieper

Thorsten Pieper

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Mathias Ulbricht für die reizvolle Themenstellung, die stete Diskussionsbereitschaft sowie für die gute Betreuung, den hilfreichen Anregungen und den gewährten Freiheiten.

Herrn Prof. habil. Dr.-Ing. Stephan Barcikowski möchte ich für die freundliche Übernahme des Koreferates danken.

Allen Kooperationspartnern möchte ich für die stete Diskussionsbereitschaft und gute Zusammenarbeit danken.

Allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Technische Chemie II, insbesondere Jackelyn Aragón-Gomez, Inge Danielzik, Tobias Kallweit, Roswitha Nordmann-Silberg, Claudia Schenk sowie Jürgen Schulze-Braucks danke ich für Ihre permanente Unterstützung und Hilfsbereitschaft während der Anfertigung dieser Arbeit.

Vor allem möchte ich mich bei meinen Studenten, Auszubildenden und Hilfskräften Benedikt Aumeier, Dennis Baljak, Dominic Büning, Inga Stratmann, Hanna Thierfeld und meiner RISE Studentin Darcie Hicks bedanken, ohne deren außerordentliches Engagement, Teamwork und Hilfsbereitschaft diese Arbeit nicht in diesem Umfang möglich gewesen wäre.

Für die Hilfe und Diskussionsbereitschaft sowie für den unkomplizierten Umgang und den vielen Spaß während der Arbeit möchte ich mich besonders bei Sven Behnke, Marc Birkner, Sven Frost, Aleksandra Gajda, Tobias Hennecke, Christian Kuhn, Oxana Mechling, Mathias und Polina Quilitzsch, Nico Stahra, Thorsten van den Berg sowie Anne Vaterrodt bedanken.

Für die Unterstützung und Durchführung verschiedenster Experimente möchte ich mich bei Smail Boukercha (REM), Dieter Jacobi (GPC), Klaus Pärschke (Ellipsometrie), Dr. Tobias Schleuß (GPC bei Sartorius Stedim Biotech) und Elio Zellermann (AFM) bedanken.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, Freunden, und meiner Partnerin Nicole. Ihr habt mich mein Leben lang bedingungslos unterstützt; habt mich ermutigt mein Abitur nachzuholen; wart immer an meiner Seite; habt mit mir gejubelt und gelitten und habt so erst meinen Werdegang und mein Studium ermöglicht.

Euch allen möchte ich diese Arbeit widmen.

- Hinzufallen ist keine Schande, es verliert wer liegen bleibt -

BETONTOD

- STEH AUF! -

|   |      |
|---|------|
| Zusammenfassung .....   | XIII |
| Abkürzungsverzeichnis .....   | XIX  |
| Symbolverzeichnis .....   | XXI  |
| 1. Einleitung .....   | 1    |
| 2. Theoretische Grundlagen .....  | 3    |
| 2.1 Transportprozesse .....   | 4    |
| 2.1.1 Diffusion .....   | 4    |
| 2.1.2 Porenflussmodell .....  | 8    |
| 2.1.3 DONNAN-Effekt .....   | 10   |
| 2.1.4 Widerstandsmodell .....   | 12   |
| 2.2 Ultrafiltration .....   | 13   |
| 2.2.1 Herstellung von Membranen .....   | 13   |
| 2.2.2 Nichtlösungsmittel induzierte Phasenseparation (NIPS) .....                 | 14   |
| 2.2.3. Ultrafiltrationsmembranen .....  | 17   |
| 2.2.4 Flussverringern während der Ultrafiltration .....                           | 20   |
| 2.2.5 Konzentrationspolarisation .....  | 21   |
| 2.2.6 Membran-Fouling .....   | 24   |
| 2.3 Membranoberflächenmodifizierung .....   | 29   |
| 2.3.1 Anforderungen für <i>Fouling</i> resistente Oberflächen .....               | 29   |
| 2.3.2 Membranmodifizierung durch UV-photoinitiertes <i>grafting</i> .....         | 30   |
| 2.3.3 Ultrafiltration durch Kombination von Größen- und Ladungsselektivität ..... | 33   |
| 3. Zielsetzung und Konzept .....  | 39   |
| 4. Experimenteller Teil .....   | 46   |
| 4.1 Membranherstellung .....  | 47   |
| 4.1.1 Membrangießlösung .....   | 47   |
| 4.1.2 Membranpräparation .....  | 48   |
| 4.2 Membranoberflächenfunktionalisierung .....                                    | 49   |

|  |    |
|--|----|
| 4.2.1 Copolymerisation von <i>N,N</i> -3-Dimethylaminopropylacrylamid (DMPAA) und 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure (AMPS) via <i>grafting-from</i> ..... | 49 |
| 4.2.2 Polymerisation von 3-Sulfopropyldimethyl-3-methacrylamidopropylammoniumhydroxid (SPP) via <i>grafting-from</i> .....                                     | 50 |
| 4.2.3. Modifizierung von Silizium-Wafer zur Ellipsometrie .....  | 50 |
| 4.3 Bulkhydrogele .....  | 51 |
| 4.3.1 Präparation von Bulkhydrogelen .....   | 51 |
| 4.3.2 Quellexperimente mit Bulkhydrogelen.....   | 52 |
| 4.4 Membrancharakterisierung .....   | 53 |
| 4.4.1 Direkte Membrancharakterisierung .....   | 53 |
| 4.4.1.1 Funktionalisierungsgrad (degree of <i>grafting</i> , DG) .....   | 53 |
| 4.4.1.2 Bestimmung des effektiven Diffusionskoeffizienten .....  | 54 |
| 4.4.1.3 Zetapotential.....   | 56 |
| 4.4.1.4 Kontaktwinkelmessung .....   | 60 |
| 4.4.1.5 <i>Dead-End</i> Filtrationen .....   | 61 |
| 4.4.1.6 <i>Fouling</i> -Beständigkeit .....  | 62 |
| 4.4.1.7 Größenausschlussgrenze ( <i>Cut-Off</i> ) .....  | 63 |
| 4.4.1.8 Rasterelektronenmikroskopie (REM) und Rasterkraftmikroskopie (AFM) .....   | 64 |
| 4.4.2 Indirekte Membrancharakterisierung .....   | 65 |
| 4.4.2.1 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) zur Konzentrationsbestimmung ..  | 65 |
| 4.4.2.2 Ionenchromatographie (IC) zur Konzentrationsbestimmung .....   | 66 |
| 4.4.2.3 Totaler organischer Kohlenstoffanteil zur Konzentrationsbestimmung .....   | 66 |
| 4.4.2.4 UV-VIS Spektroskopie zur Konzentrationsbestimmung.....   | 67 |
| 4.4.2.5 Ellipsometrie .....  | 67 |
| 4.4.2.6 Rheologie .....  | 68 |
| 4.5 Proteinseparation via <i>dead-end</i> Ultrafiltration durch Kombination von Größen- und Ladungsselektivität .....  | 68 |



|   |    |
|---|----|
| 4.5.1 Einstellung der Ultrafiltrationsbedingungen .....   | 68 |
| 4.5.2 Durchführung der Proteinultrafiltration .....   | 69 |
| 5. Ergebnisse .....   | 71 |
| 5.1 Kommerzielle Membranen .....  | 72 |
| 5.1.1 Übersicht verwendeter kommerzieller PES UF-Membranen .....  | 72 |
| 5.1.2 Rasterelektronenmikroskopie .....   | 72 |
| 5.1.3 Kontaktwinkel .....   | 74 |
| 5.1.4 Zetapotentialmessung .....  | 74 |
| 5.1.5 Kaliumdiffusion .....   | 76 |
| 5.2 Herstellung und Charakterisierung der Basismembran .....  | 80 |
| 5.2.1 Variation der Gießlösung .....  | 80 |
| 5.2.2 Rasterelektronenmikroskopie .....   | 81 |
| 5.2.3 Dextranrückhalt .....   | 82 |
| 5.2.4 Reproduzierbarkeit der Basismembran .....   | 82 |
| 5.2.5 Größenausschlussgrenze .....  | 84 |
| 5.2.6 Ermittlung des effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten .....   | 85 |
| 5.3 Erste Membranmodifizierung mit amphoterer Ionenaustauscherschicht .....   | 86 |
| 5.3.1 Funktionalisierungsgrad .....   | 86 |
| 5.3.2 Kontaktwinkelmessung .....  | 87 |
| 5.3.3 Zetapotentialmessung .....  | 88 |
| 5.3.4 Einstellung des isoelektrischen Punktes .....   | 89 |
| 5.3.5 Ermittlung der effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten .....   | 91 |
| 5.3.6 Vergleich von Kaliumfluss und Kaliumdiffusion zwischen Sartorius 5 kDa Membranen<br>und selbst produzierten Membranen ..... | 94 |
| 5.3.7 <i>Fouling</i> -Beständigkeit der amphoteren Ionenaustauscherschicht .....  | 95 |
| 5.3.8 Quellgrad und Schichtdicke der amphoteren Ionenaustauscherschicht .....   | 96 |
| 5.3.9 Größenausschlussgrenze .....  | 98 |

|  |     |
|--|-----|
| 5.4 Zweite Membranmodifizierung mit zusätzlicher <i>Anti-Fouling</i> -Beschichtung .....                     | 99  |
| 5.4.1 Wahl des Photoinitiators .....   | 99  |
| 5.4.2 Einstellung der Pfropfungsbedingungen .....  | 100 |
| 5.4.3 Funktionalisierungsgrad.....   | 101 |
| 5.4.4 Kontaktwinkelmessung.....  | 102 |
| 5.4.5 Zetapotentialmessung .....   | 103 |
| 5.4.6 Ermittlung der effektiven Diffusionskoeffizienten .....  | 104 |
| 5.4.7 <i>Fouling</i> -Beständigkeit der <i>Anti-Fouling</i> Beschichtung.....                                | 106 |
| 5.4.8 Größenausschlussgrenze .....   | 108 |
| 5.4.9 Rasterkraftmikroskopie .....   | 108 |
| 5.5 Kombinierte Diffusionsmessungen.....   | 110 |
| 5.5.1 Kombinierte Diffusionsmessungen mit repräsentativen Blutbestandteilen .....                            | 110 |
| 5.5.2 Kombinierte Kalium/Natrium Diffusion.....  | 116 |
| 5.6 Membranexperimente in Zusammenarbeit mit Kooperationspartnern .....                                      | 117 |
| 5.6.1 Membransterilisation .....   | 117 |
| 5.6.2 <i>In vivo</i> Tierversuche .....  | 121 |
| 5.7 Kompositmembranen mit eingestelltem isoelektrischen Punkt und variierter<br>Größenausschlussgrenze ..... | 122 |
| 5.8 Proteinseparation mit Kompositmembranen mit amphoterer Ionenaustauscherschicht ...                       | 124 |
| 5.8.1 Konzept der Proteinseparation.....   | 124 |
| 5.8.2 Einstellung der Ultrafiltrationsbedingungen .....  | 125 |
| 5.8.3 Hydrodynamischer Durchmesser der Proteine .....  | 127 |
| 5.8.4 pH abhängige Quellung der amphoterer Ionenaustauscherschicht.....                                      | 128 |
| 5.8.5 Proteinrückhalt .....  | 128 |
| 5.8.6 Flussverringern während der Ultrafiltration.....   | 132 |
| 5.8.7 Flusswiederherstellung.....  | 133 |

|   |     |
|---|-----|
| 6. Diskussion .....   | 135 |
| 6.1 Kommerzielle PES UF-Membranen.....  | 136 |
| 6.2. Festlegung der Zielsetzung/ Anforderungen an die Membran .....   | 138 |
| 6.3 Membranherstellung .....  | 139 |
| 6.3.1 Variation des PEG Gehaltes .....  | 139 |
| 6.3.2 Variation des LiBr Gehaltes.....  | 140 |
| 6.3.3 Reproduzierbarkeit der Membranherstellung.....  | 142 |
| 6.4 Membranfunktionalisierung .....   | 143 |
| 6.4.1 Membranmodifizierung mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht .....                              | 143 |
| 6.4.1.1 Funktionalisierungsgrad.....  | 143 |
| 6.4.1.2 Kontaktwinkel .....   | 145 |
| 6.4.1.3 Zetapotential.....  | 146 |
| 6.4.2 Übertragbarkeit der Membranfunktionalisierung von Sartorius 5 kDa auf selbstproduzierte Membranen ..... | 149 |
| 6.4.3 Membranmodifizierung mit zusätzlicher <i>Anti-Fouling</i> Schicht .....                                 | 151 |
| 6.4.3.1 Funktionalisierungsgrad.....  | 151 |
| 6.4.3.2 Kontaktwinkel .....   | 152 |
| 6.4.3.3 Zetapotential.....  | 153 |
| 6.5 Barriereigenschaften der Kompositmembranen .....  | 154 |
| 6.6 Oberflächeneigenschaften der Kompositmembranen .....  | 157 |
| 6.7 Trennleistung von zweifach modifizierten Kompositmembranen im Bezug zum <i>in vivo</i> Sensor .....       | 163 |
| 6.8 Trennleistung von amphoteren Hydrogel-Kompositmembranen bei Proteinultrafiltration                        | 166 |
| 6.9 Membraneigenschaften im Bezug zum <i>in vivo</i> Sensor .....   | 172 |
| 7. Schlussfolgerung und Ausblick.....   | 175 |
| 8. Literaturverzeichnis .....   | 180 |
| 9. Anhang .....   | 186 |

|  |     |
|--|-----|
| 9.1 Zusätzliche Abbildungen .....  | 187 |
| 9.1.1 Kombinierte Diffusionsmessungen .....  | 187 |
| 9.1.2 Kompositmembranen mit eingestelltem isoelektrischen Punkt und variierter<br>Größenausschlussgrenze ..... | 189 |
| 9.1.3 Proteinseparation mit Kompositmembranen mit amphoterer Ionenaustauscherschicht<br>.....                  | 190 |
| 9.2 Abbildungsverzeichnis .....  | 192 |
| 9.3 Tabellenverzeichnis .....  | 198 |
| 9.4 Liste der Verwendeten Chemikalien.....   | 199 |
| 9.5 Publikationsliste.....   | 201 |
| 9.5.1 Posterpräsentationen .....   | 201 |
| 9.5.2 Fachartikel.....   | 201 |
| 9.6 Lebenslauf.....  | 202 |

## Zusammenfassung

Kalium ist im menschlichen Körper ein wichtiger Blut- und Zellelektrolyt, welcher für viele Körperfunktionen, vor allem für die Muskel- und Nerventätigkeit, eine entscheidende Rolle spielt. Insbesondere bei Patienten mit chronischer Herz- oder Niereninsuffizienz ist die medizinische Erfassung der Blutkaliumkonzentration bei einer Behandlung mit Diuretika außerordentlich wichtig. Für eine bessere Überwachung wird die Entwicklung eines *in vivo* Sensors zur permanenten Registrierung der Blutkaliumkonzentration angestrebt.

Ziel dieser Dissertation war die Entwicklung einer kaliumpermeablen Barrieremembran, welche das Sensorinnere vom äußeren Blutkreislauf abgrenzt. Dazu wurden zunächst kommerziell erhältliche Ultrafiltrationsmembranen aus Polyethersulfon (PES) verschiedener Hersteller bezüglich ihrer Eigenschaften untersucht. Dabei zeigte sich eine starke Abhängigkeit des ermittelten Kaliumflusses von der Membrandicke. Bedingt durch die Tatsache, dass es keine kommerziell erhältliche PES Membran mit adäquater Membrandicke sowie Größenausschlussgrenze (*Cut-Off*) gab, wurde eine eigene 45 µm dünne PES Membran mit einem *Cut-Off* von ca. 5 kDa basierend auf einer Nichtlösungsmittel induzierten Phasenseparation (NIPS Prozess) erfolgreich hergestellt. Zusätzlich wurde eine PES Membran der Firma Sartorius Stedim Biotech GmbH mit einem *Cut-Off* von 5 kDa als Referenzmaterial für die nachfolgenden Experimente ausgewählt.

Bei der Herstellung eigener dünner Membranen aus PES zeigte sich eine sehr starke Abhängigkeit der Porengröße und der damit einhergehenden Wasserpermeabilität von der Zusammensetzung der Membrangießlösung. Das zunächst verwendete Polyethylenglykol (PEG) innerhalb der Gießlösung führte zu einer zu hydrophilen Protomembran und im Zuge dessen zu Membrandefekten. Die Substitution des verwendeten Polyethylenglykols durch Aceton führte zu deutlich homogenen Membranen, deren Wasserpermeabilitäten immer näher an den Referenzwert der kommerziellen 5 kDa Membran von etwa 16 L/h m<sup>2</sup> bar heran reichten. Die Konzentrationsvariation von ebenfalls zugesetztem Lithiumbromid (LiBr) führte zu stark unterschiedlichen Membranstrukturen basierend auf der Komplexbildung des

Lösungsmittels *N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP) und einhergehender unterschiedlicher Viskosität der Gießlösung und verlangsamter Koagulationsgeschwindigkeit. Entsprechend dieser Ergebnisse wurde auf den Einsatz von LiBr in der Gießlösung zur Herstellung eigener Membranen verzichtet.

Zur Verbesserung der *Anti-Fouling* Eigenschaften und zur Reduktion des Donnan-Effektes wurde eine nachträgliche Oberflächenmodifizierung der Membran vorgenommen. Dazu wurde ein Konzept verwendet, welches von einer schrittweisen UV-initiierten Oberflächenmodifizierung einer porösen PES Membran ausgeht. Dazu wurde in einem ersten Modifizierungsschritt eine amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht bestehend aus einem Copolymer von *N,N*-3-Dimethylaminopropylacrylamid (DMAPAA) und 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure (AMPS) auf der Membranoberfläche gepfropft (*p*(DMAPAA-*co*-AMPS)). Der isoelektrische Punkt (IEP) dieser Schicht wurde dabei auf den pH Wert des Blutes (pH 7,4) eingestellt. Die Einstellung erfolgte dabei durch das molare Mischungsverhältnis der beiden Monomere, die Gesamtkonzentration sowie die UV- Belichtungszeit. Dabei konnte die Reproduzierbarkeit des IEPs dieser Hydrogel-Ionenaustauscherschicht durch Zetapotentialmessungen (ZP) nachgewiesen werden. In anschließenden Diffusionsexperimenten mit einer 10 mM Kaliumchlorid- (KCl) Lösung konnte der positive Effekt dieser Modifizierung bei Variation des pH-Wertes nachgewiesen werden. Die modifizierten Membranen besaßen im Vergleich zur unmodifizierten Basismembran nicht nur bessere Eigenschaften bezüglich der Kaliumdiffusion, sondern darüber hinaus auch eine verbesserte *Fouling*-Beständigkeit ( $R_f$ ) von 0,6 beim Kontakt mit fötalem Kälberserum (*fetal bovine serum*, FBS) im Vergleich zu 0,35 für unmodifizierte Membranen.

Um die *Fouling*-Resistenz der modifizierten Membran weiter zu steigern, wurde eine zusätzliche zwitterionische Schicht bestehend aus *poly*-3-Sulfopropyltrimethyl-3-methacrylamidopropylammoniumhydroxid (*p*SPP) auf der bereits vorhanden ersten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht gepfropft. Dabei zeigte sich eine starke Abhängigkeit der Pfropfungsstärke (*degree of grafting*, DG) von der gewählten Photoinitiatorkonzentration sowie der UV-Belichtungszeit. Die *Anti-Fouling* Eigenschaften

konnten erheblich verbessert werden und erreichten teils sogar Werte größer 1, was auf eine erhöhte Hydrophilie nach dem *Fouling*-Experiment zurückzuführen war. Gleichzeitig trat keine zusätzliche Verringerung der Kaliumdiffusion durch die zweite Modifizierungsschicht auf.

Da im Zuge der Optimierungsschritte für die Membranherstellung und Modifizierung mehrere Parameter variiert wurden beinhaltet Tab. 1 zur besseren Übersicht die auf Grundlage der experimentellen Daten ausgewählten Parameter zur Herstellung der Basismembran sowie der ersten und zweiten Modifizierung.

Tab. 1: Übersicht der ausgewählten Parameter zur Membranherstellung und Modifizierung.

| Entwicklungsstufe | Parameter  |
|-------------------|--|
| Basismembran      | 69 % <i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidon (NMP); 21 % Polyethersulfon E6020P (PES); 9 % Aceton <i>p.a.</i> ; 1 % Polyvinylpyrrolidon (PVP)                |
| 1. Modifizierung  | 150 mM 53/47 mol% DMAPAA/AMPS; 25 min UV-Belichtungszeit;<br>$I = 5 \text{ mW/cm}^2$ ; $\lambda = 315 \text{ nm} \leq \lambda \leq 400 \text{ nm}$ |
| 2. Modifizierung  | 1. Modifizierung + 200 mM SPP + 10 mM PI; 15 min UV-Belichtungszeit;<br>$I = 5 \text{ mW/cm}^2$ ; $\lambda = 360 \pm 30 \text{ nm}$                |

Während der Analyse des Pfropfungsverhaltens von einer 1/1 Mischung von DMAPAA/AMPS auf verschiedenen kommerziellen Membranen mit unterschiedlichen *Cut-Off* Werten zwischen 1 und 300 kDa zeigte sich erneut die Abhängigkeit des IEPs von der Belichtungszeit. So driftete der IEP mit steigender Belichtungszeit stets zu höheren pH Werten, was auf einen vermehrten Einbau von DMAPAA in der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht hindeutet. Des Weiteren hatte auch die Porengröße der verwendeten Membranen einen Einfluss auf das Pfropfungsverhalten, da die Abhängigkeit des IEPs von der Belichtungszeit mit steigender Porengröße permanent geringer wurde. So stieg der IEP bei einer 1 kDa PES Membran von 4,4 auf 6,2 bei einer Verlängerung der Belichtungszeit von 15 auf 30 min. Dem gegenüber erhöhte sich der IEP bei einer 300 kDa PES Membran von 6,6 auf nur 6,9 bei gleichen Belichtungszeiten.

Bei der Verwendung von amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschichten mit einem IEP von pH = 6 auf einer kommerziellen PES 100 kDa Membran zur Separation von Albumin

(bovine serum albumin, BSA) und Myoglobin (Myo) zeigte sich eine starke Abhängigkeit des Myoglobinerückhaltes vom eingestellten pH-Wert. Bei einem pH-Wert von 4,8 waren sowohl die Membran als auch das Myoglobin netto positiv geladen, wodurch der Rückhalt zwischen 60 - 80 % betrug. Bei einem pH-Wert von 7 (IEP von Myoglobin) dagegen war die Membran netto negativ geladen, dass Myoglobin hingegen netto neutral, sodass der Rückhalt nur noch 20 - 30 % betrug. Eine vergleichbare Tendenz bei dem Rückhalt von BSA konnte andererseits nicht ermittelt werden, da der BSA Rückhalt zum Großteil auf Größenausschluss beruhte und generell sehr hohe Rückhalte von 60 - 90 % ermittelt wurden.

Potassium is an important blood and cell electrolyte and plays a crucial role in various body functions, especially for the metabolism of muscle and nerve cells. Particularly for patients with a chronic heart or kidney failure, the medical monitoring of the blood potassium concentration during a treatment with diuretics is extremely important. The aim is the development of an artificial *in vivo* sensor for a continuous registration of the potassium blood concentration.

The aim of this study was to develop a potassium permeable barrier membrane that shields the interior sensor system from the external bloodstream. For this purpose, commercially available polyethersulfone (PES) ultrafiltration membranes from various manufacturers were analyzed. The results showed a strong dependence of the calculated potassium flux on the membrane thickness. Due to the fact that there was no adequate PES membrane with a low thickness as well as appropriate exclusion limit (*Cut-Off*) on the market, a 45 µm thin PES membrane with a *Cut-Off* of 5 kDa based on a non solvent induced phase separation (NIPS) process was successfully self-prepared. In addition, a PES membrane from Sartorius Stedim Biotech GmbH with a *Cut-Off* of 5 kDa has been selected as a reference material for the subsequent experiments.

The produced thin PES membranes showed a very strong dependence of the casting solution composition on the pore size and the resulting water permeability of the casted



membranes. The primary used polyethylene glycol in the casting solution lead to a too hydrophilic proto membrane tending to membrane defects. The substitution of the used polyethylene glycol by acetone lead to significantly more homogeneous membranes whose water permeabilities were closer to the reference value of the commercial 5 kDa membrane of about 16 L/h m<sup>2</sup> bar. Variation of the LiBr content also lead to different membrane structures based on the complexation of the solvent *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) and accompanying different viscosities of the casting solutions and hence slower coagulation speeds. According to these results, a casting solution without LiBr was used for the membrane preparation.

To increase the anti *Fouling* properties and to reduce the Donnan effect, a subsequent surface modification of the membrane was performed. For this purpose, a concept was used, which assumes a gradual UV-initiated surface modification of the PES membrane. In a first modifying step, an amphoteric hydrogel ion exchange layer consisting of a *N,N*-3-dimethyl amino propyl acryl amide (DMPAA) and 2-acryl amido-2-methyl propane sulfonic acid (AMPS) copolymer was grafted to the membrane surface. The isoelectric point (IEP) of that layer was adjusted to the pH of blood (pH 7.4). The adjustment was carried out by variation of the molar ratio of the two monomers, the total monomer concentration and the UV exposure time. The reproducibility of the IEP of this amphoteric hydrogel ion exchange layer was proofed by zeta potential measurements (ZP). In subsequent diffusion experiments with a 10 mM KCl solution, the positive effect of this modification was detected when varying the pH value. In comparison to the unmodified base membrane, the modified membranes had not only improved properties in terms of potassium diffusion, they also showed an enhanced fouling resistance ( $R_f$ ) of 0.6 in presence of fetal bovine serum (FBS) compared to 0.35 for unmodified membranes.

For further increase of the anti fouling properties of the modified membranes, an additional hybrid ionic layer consisting of *poly*-3-3-sulfopropyl dimethyl methacryl amido propyl ammonium hydroxide (*p*SPP) was grafted on the already present first amphoteric hydrogel ion exchange layer. Here, the degree of grafting strongly depends on the selected photo initiator concentration and UV exposure time. The anti fouling properties

could be greatly improved and some even reached values greater than 1, which was due to an increased hydrophilicity after fouling experiment. Simultaneously, no additional reduction of potassium diffusion through the second modification layer occurred.

The analysis of the *grafting* results from a 1/1 mixture of DMAPAA/AMPS on a variety of commercial PES membranes with different Cut-Off values between 1 and 300 kDa showed again the dependence of the IEP on the exposure time. Thus, the IEP drifted with increasing exposure time to higher pH values, suggesting an increased incorporation of DMAPAA in the amphoteric hydrogel ion exchange layer. Furthermore, the pore size of the membrane used had an influence on the grafting result. The influence of the exposure time on the IEP is continuously reduced with an increasing pore size. Thus, the IEP increased for a 1 kDa PES membrane from 4.4 to 6.2 with an increase in the exposure time from 15 to 30 min. In contrast, the IEP increased for a 300 kDa PES membrane only from 6.6 to 6.9 with the same extension of the exposure time of 15 to 30 min.

When using an amphoteric hydrogel ion exchange layer with an IEP of pH = 6 on a commercial 100 kDa PES membrane for separation of bovine serum albumin (BSA) and myoglobin (myo), the myoglobin rejection showed a strong dependence on the pH value. At a pH of 4.8, both the membrane and the myoglobin were net positively charged, whereby the rejection value was between 60 - 80 %, respectively. At a pH value of 7 (IEP of myoglobin), however, the membrane was net negatively charged and myoglobin was net neutral, so that the rejection value was only between 20 - 30 %. A comparable trend of the rejection of BSA could not be determined because the BSA retention was based largely on size exclusion and generally very high rejection values between 60 - 90% were determined.

## Abkürzungsverzeichnis

|                  |   |
|------------------|---|
| Abb.             | Abbildung   |
| AMPS             | 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure  |
| APS              | Ammoniumperoxodisulfat  |
| ATRP             | <i>Atom Transfer Radical Polymerization</i>                                   |
| BSA              | <i>Bovine Serum Albumin</i>   |
| CP               | Konzentrationspolarisation  |
| dest.            | destilliert   |
| DG               | Graftingstärke (degree of grafting)   |
| DLS              | dynamische Lichtstreuung  |
| DMAPAA           | <i>N,N</i> -3-Dimethylaminopropylacrylamid                                    |
| EIPS             | Evaporation Induced Phase Separation  |
| EO               | Ethylenoxid   |
| FBS              | fötales Kälberserum ( <i>fetal bovine serum</i> )                             |
| Gl.              | Gleichung   |
| HPLC             | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie                                      |
| IC               | <i>inorganic carbon</i>   |
| IEP              | isoelektrischer Punkt   |
| KAM              | Kationaustauschermembran  |
| kDa              | kilo Dalton   |
| LDM              | Lösungs-Diffusions-Modell   |
| LM               | Lösungsmittel   |
| MBAA             | <i>N,N'</i> -Methylenbisacrylamid   |
| MF               | Mikrofiltration   |
| MW               | Maschenweite  |
| MWCO             | Molecular Weight Cut-Off  |
| Myo              | Myoglobin   |
| NaN <sub>3</sub> | Natriumazid   |
| NIPS             | Nichtlösungsmittel induzierte Phasenseparation                                |
| NLM              | Nichtlösungsmittel  |
| NMP              | <i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidon   |
| PEG              | Polyethylenglykol   |
| PES              | Polyethersulfon   |
| PI               | Photoinitiator  |
| PS               | Phasenseparation  |
| PSf              | Polysulfon  |
| <i>p</i> SPP     | <i>poly</i> -3-Sulfopropyldimethyl-<br>3-methacrylamidopropylammoniumhydroxid |
| PVA              | Polyvinylalkohol  |
| PVP              | Polyvinylpyrrolidon   |
| QG               | Quellgrad   |
| REM              | Rasterelektronenmikroskop   |

|                |  |
|----------------|--|
| R <sub>f</sub> | Foulingbeständigkeit (fouling resistance)  |
| RI             | Refraktionsindex                           |
| rpm            | <i>rounds per minute</i>                   |
| rps            | <i>rounds per second</i>                   |
| Sh             | Sherwood-Zahl                              |
| Tab            | Tabelle                                    |
| TC             | <i>total carbon</i>                        |
| techn.         | technisch                                  |
| TEMED          | <i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethylendiamin |
| <i>tert.</i>   | tertiär                                    |
| TIPS           | Thermal Induced Phase Separation           |
| TMD            | transmembraner Druck                       |
| TOC            | <i>total organic carbon</i>                |
| UF             | Ultrafiltration                            |
| UV             | Ultraviolett                               |
| vgl.           | Vergleich                                  |
| VIPS           | Vapor Induced Phase Separation             |
| ZP             | Zetapotential                              |

## Symbolverzeichnis

|                  |   |
|------------------|---|
| A                | Fläche  |
| c                | Konzentration                                 |
| cm               | Zentimeter                                    |
| D                | Diffusionskoeffizient                         |
| $D_{\text{eff}}$ | effektiver Diffusionskoeffizient              |
| d                | Durchmesser                                   |
| $d_p$            | Porendurchmesser                              |
| h                | Stunde  |
| J                | Fluss   |
| $J_T$            | Teilchenstromdichte                           |
| $J_{WP}$         | Flusswiederherstellung nach Proteinfiltration |
| $J_{wx}$         | Flusswiederherstellung (allgemein)            |
| $J_{wNaOH}$      | Flusswiederherstellung nach NaOH Reinigung    |
| k                | Stoffdurchgangskoeffizient                    |
| $k_B$            | Boltzmann-Konstante                           |
| $L_p$            | Permeabilität                                 |
| $L_{p0}$         | Permeabilität zum Zeitpunkt 0                 |
| $L_{pP}$         | Permeabilität nach Proteinfiltration          |
| $L_{pNaOH}$      | Permeabilität nach NaOH Reinigung             |
| l                | Länge   |
| M                | molare Masse                                  |
| $M_c$            | molare Masse zwischen zwei Vernetzungspunkten |
| $M_M$            | mittlere Molmasse der Monomermischung         |
| m                | Masse   |
| mbar             | Millibar                                      |
| mL               | Milliliter                                    |
| mm               | Millimeter                                    |
| mM               | Millimol                                      |
| mol%             | Molprozent                                    |
| mV               | Millivolt                                     |
| n                | Stoffmenge                                    |
| $\dot{n}$        | Stoffmengenstrom                              |
| nm               | Nanometer                                     |
| p                | Druck   |
| $p$              | poly  |
| Q                | Volumenstrom                                  |
| R                | Widerstand                                    |
| R                | allgemeine Gaskonstante                       |

|                  |   |
|------------------|---|
| $R_f$            | <i>Fouling</i> -Beständigkeit                 |
| $R_G$            | Gesamtwiderstand                              |
| $R_i$            | Rückhalt der Komponente i                     |
| $r$              | Radius  |
| $r_H$            | hydrodynamischer Radius                       |
| $r_M$            | Molekülradius                                 |
| $r_p$            | Porenradius                                   |
| $S$              | Selektivität                                  |
| $s$              | Sekunde                                       |
| $T$              | Temperatur                                    |
| Vol%             | Volumenprozent                                |
| w%               | Gewichtsprozent                               |
| w/w%             | anteilmäßiges Gewichtsprozent                 |
| $x$              | Membrandicke                                  |
| $\Delta c$       | Konzentrationsdifferenz                       |
| $\Delta \bar{c}$ | Mittelwert der Konzentrationsdifferenz        |
| $\Delta n$       | Stoffmengendifferenz                          |
| $\Delta t$       | Zeitdifferenz                                 |
| $\beta$          | Stoffübergangskoeffizient                     |
| $\gamma$         | Grenzflächenenergie                           |
| $\epsilon_0$     | Dielektrizitätskonstante des Vakuums          |
| $\epsilon_p$     | Membranporosität                              |
| $\epsilon_r$     | Dielektrizitätskonstante der Elektrolytlösung |
| $\zeta$          | Zetapotential                                 |
| $\eta$           | dynamische Viskosität                         |
| $\lambda$        | Wellenlänge                                   |
| $\mu$            | chemische Potential                           |
| $\tau$           | Tortuosität                                   |

# 1. Einleitung

Kalium ist für den menschlichen Körper ein essenzieller Mineralstoff und ist als wichtigstes intrazelluläres Kation an den physiologischen Prozessen jeder Zelle involviert. Die intrazelluläre Kaliumkonzentration beträgt ca. 150 mmol/L, die extrazelluläre Konzentration und somit auch die Blutkaliumkonzentration liegt in einem Bereich von 3,6 - 5,5 mmol/L. Bedingt durch diese Tatsache spielt Kalium als Blut- und Zellelektrolyt eine entscheidende Rolle für den Stoffwechsel der Muskel- und Nervenzellen. Der Kaliumspiegel beeinflusst die Anregung und Reizleitung der Nervenzellen, sowie die Reizbildung des Herzens,<sup>[1]</sup> da er benötigt wird um die Zellmembran nach einer elektrischen Erregung zu repolarisieren. Weiterhin sorgt Kalium für die Aufrechterhaltung eines normalen Blutdrucks<sup>[2]</sup> und ist an der Regulation des Wasser- und Säure-Base-Gleichgewichtes beteiligt.<sup>[3]</sup>

Eine dauerhafte Unterschreitung (Hypokaliämie) bzw. Überschreitung (Hyperkaliämie) der Kaliumkonzentration vom Normalbereich im menschlichen Blutkreislauf tritt vor allem bei diversen Herz- und Nierenerkrankungen auf. Dazu zählt in Industrienationen wie Deutschland vor allem die chronische Herzinsuffizienz, welche eine der 20 häufigsten Gründe für das Aufsuchen einer allgemeinmedizinischen Praxis<sup>[4]</sup> und in Deutschland sogar der häufigste Grund für einen stationären Krankenhausaufenthalt darstellt.<sup>[5]</sup> Laut dem Statistischen Bundesamt ist eine chronische Herzinsuffizienz die dritthäufigste krankheitsbedingte Todesursache in Deutschland mit über 45.000 Todesfällen in 2011.<sup>[6]</sup>

Eine Hypokaliämie kann bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz auch durch eine Therapie bedingte Gabe von Diuretika erfolgen, welche die Ausschwemmung von Wasser aus dem Organismus durch die Nieren bewirken. Typische Auswirkungen einer Hypokaliämie sind Lähmungserscheinungen der Gliedmaßen, Arrhythmie,<sup>[7]</sup> Tachykardie und Kammerflimmern des Herzens, welche bis zum Herzstillstand und Tod führen können.

Eine Hyperkaliämie tritt vor allem auf, wenn nicht genügend Kalium über die Nieren ausgeschieden werden kann. Dies ist u.a. bei einer chronischen Niereninsuffizienz der Fall. Bereits im Jahr 2002 gab es geschätzt 1,5 Mio. Menschen weltweit, welche

[1]



dialysepflichtig waren oder bereits eine Spenderniere besaßen.<sup>[8]</sup> Symptome einer Hyperkaliämie sind ebenfalls Arrhythmie sowie Parästhesie.

Durch die starke Beeinflussung der Blutkaliumkonzentration durch auftretende Herz- und Nierenerkrankungen erfolgt besonders zu Beginn einer humanmedizinischen Herz-/Niereninsuffizienztherapie eine tägliche Kontrolle des Blutkaliumspiegels. Dazu ist eine tägliche Analyse durch eine Blutentnahme beim Patienten essentiell notwendig. Durch diese Vorgehensweise entstehen hohe Kosten für das Gesundheitssystem und vor allem eine enorme Belastung des Patienten.

Herz- und Niereninsuffizienzpatienten könnten daher von der Entwicklung eines implantierbaren Sensors zur *in vivo* Erfassung der Blutkaliumkonzentration profitieren. Dadurch wird zum Einen eine finanzielle Entlastung des Gesundheitssystems in Deutschland und zum Anderen eine Verbesserung der Lebensqualität des Patienten angestrebt. Damit ein solcher Sensor störungsfrei innerhalb des Blutkreislaufes arbeiten kann, ist es erforderlich, das Sensorinnere von dem umgebenden äußeren Blutkreislauf mit Hilfe einer kaliumpermeablen Barrieremembran vor möglichen störenden Blutbestandteilen abzuschirmen. Gleichzeitig muss eine „Verstopfung“ bzw. „Bedeckung“ (*Fouling*) der Membranoberfläche für einen möglichst großen Kaliumfluss durch die Membran vermieden werden. Die Entwicklung einer solchen Membran als Bestandteil des genannten Sensorsystems bildet die Grundlage der vorliegenden Dissertation.

## 2. Theoretische Grundlagen

## 2.1 Transportprozesse

### 2.1.1 Diffusion

Diffusion (lat.: *diffundere* „ausbreiten“) ist ein physikalischer Prozess und beruht auf der ungerichteten thermischen Eigenbewegung von Teilchen, welcher in einem geschlossenen System zu einer homogenen Verteilung von Teilchen und somit z.B. zu einer vollständigen Durchmischung mehrerer Stoffe führt.<sup>[9,10]</sup> Bedingt durch diese Tatsache ist der Prozess der Diffusion in jedem System eine Funktion der Temperatur. Die Diffusion ist der durch Gradienten der Konzentration infolge thermischer Energie hervorgerufene Transport von Materie (Atome, Moleküle, Ionen, Kolloide etc.) in einer Mischung mit einem beliebigen Aggregatzustand. Bei dem Vorliegen einer ungleichmäßigen Verteilung, also dem Vorhandensein eines Konzentrationsgradienten der Teilchen in einem Medium, bewegen sich statistisch mehr Teilchen aus Bereichen hoher Konzentration in Areale geringer Konzentration als umgekehrt. Dadurch wird netto ein makroskopischer Stofftransport induziert. Unter Diffusion versteht man vereinfacht diesen Netto-Stofftransport.<sup>[9,10]</sup> Bei näherer Untersuchung des Effekts der Diffusion zeigt sich eine ausgeprägte Proportionalität zwischen dem Diffusionsstrom  $J$  (auch Teilchenstromdichte genannt) und der Konzentrationsabnahme  $dc$  auf einer Strecke  $dx$ , beschrieben durch das 1. Fick'sche Gesetz:

$$J_T = -D \frac{dc}{dx} \quad (2.1)$$

$J_T$ : Teilchenstromdichte [ $\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ]

$D$ : Diffusionskoeffizient [ $\text{m}^2/\text{s}$ ]

$dc/dx$ : Konzentrationsgradient entlang der Koordinate  $x$  [ $\text{mol}/\text{m}^4$ ]

Das bedeutet, eine Diffusion erfolgt umso schneller, je stärker sich die Konzentration mit dem Ort ändert. Der in Gl. (2.1) beschriebene Diffusionskoeffizient ist dabei ein Maß für die Beweglichkeit der Teilchen und lässt sich aus der in einer bestimmten Zeit zurückgelegten Wegstrecke ermitteln und besitzt die Einheit [ $\text{m}^2/\text{s}$  oder auch  $\text{cm}^2/\text{s}$ ].

Die thermische Eigenbewegung, auf welcher die Diffusion beruht, kann je nach dem betrachteten System sehr unterschiedlich ablaufen. In Gasen besteht sie aus einer geradlinigen Bewegung, unterbrochen von Stößen der Teilchen untereinander (oder in einem abgeschlossenen Raum auch mit der Gefäßwand) und ist stark abhängig von Temperatur und Druck. In einfacher Näherung gilt, dass eine Verdopplung des Druckes zu einer Halbierung des Diffusionskoeffizienten führt, wobei der Diffusionskoeffizient gemäß der CHAPMAN-ENSKOG-Theorie der Gesetzmäßigkeit folgt (Gl. 2.2):

$$D = \frac{1,86 \cdot 10^{-3} \cdot T^{3/2} \sqrt{1/M_1 + 1/M_2}}{p \cdot \sigma \cdot \Omega} \quad (2.2)$$

|            |                                    |            |                        |
|------------|------------------------------------|------------|------------------------|
| T:         | Temperatur [K]                     | $\Omega$ : | Kollisionsintegral [-] |
| M:         | molare Masse [g/mol]               | p:         | Druck [Pa]             |
| $\sigma$ : | mittlere Kollisionsdurchmesser [m] |            |                        |

Der Diffusionskoeffizient kann dabei Werte von bis zu 1 cm<sup>2</sup>/s erreichen.<sup>[10]</sup>

Betrachtet man jedoch eine freie Diffusion z.B. eines Teilchens in wässriger Lösung, so lässt sich diese Diffusion, d.h. der Diffusionskoeffizient, mit Hilfe der STOKES-EINSTEIN-GL. (2.3) beschreiben.<sup>[11]</sup>

$$D = \frac{k_B \cdot T}{6\pi \cdot \eta \cdot r} \quad (2.3)$$

|         |                                    |          |                                      |
|---------|------------------------------------|----------|--------------------------------------|
| $k_B$ : | Boltzmann-Konstante [J/K] = [Nm/K] | $\eta$ : | dyn. Viskosität [Ns/m <sup>2</sup> ] |
| r:      | Radius des Teilchens [m]           |          |                                      |

In Flüssigkeiten bewirkt die schnelle thermische Bewegung der Flüssigkeitsteilchen durch häufige Stöße untereinander sowie mit den in der Flüssigkeit vorhandenen Teilchen (Atome, Moleküle, Ionen, Proteine etc.) eine wesentlich langsamere Bewegung dieser Teilchen verglichen mit dem eben beschriebenen Zustand in Gasen. Beispielsweise beträgt der freie Diffusionskoeffizient von Kalium in Wasser bei 25 °C 1,96 x 10<sup>-5</sup> cm<sup>2</sup>/s.<sup>[9]</sup>

Die Zeit, welche für eine vollständige Durchmischung des Systems benötigt wird, wächst dabei mit dem Quadrat des Abstandes, wodurch eine Diffusion von Teilchen vor allem auf

Nano- bis Millimeter-Skalen wirksam ist. Auf größeren Skalen dominiert in Flüssigkeiten und Gasen Stofftransport durch Konvektion.

Diffusion von Teilchen kann aber nicht nur innerhalb eines Systems (z.B. einer Lösung), sondern auch durch Membranen hindurch erfolgen. Sind zwei Systeme mit unterschiedlicher Konzentration der Komponente  $j$  durch eine Membran voneinander getrennt, so können die Teilchen durch die Membran diffundieren, vorausgesetzt

- a: der Porenradius ist größer als der Teilchenradius (bei der Diffusion von solvatisierten Substanzen in einem fluidem System durch eine Porenmembran) oder
- b: das freie Volumen zwischen den Polymerketten einer dichten Lösungs-Diffusions-Membran ist größer als der Durchmesser der Komponente  $j$ .

Abb. 2.1 veranschaulicht diese beiden Möglichkeiten.

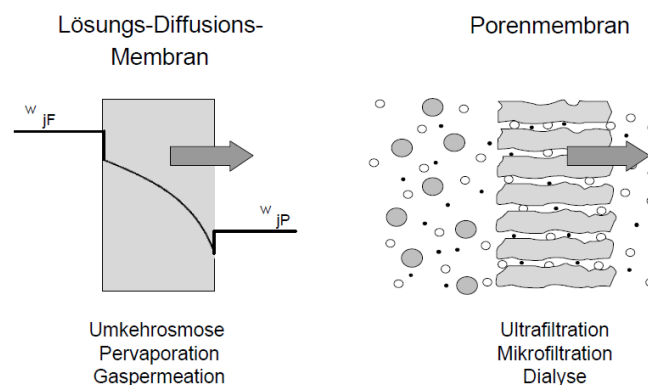


Abb. 2.1: Idealisierte Modelle einer dichten Membran (links) und einer Porenmembran (rechts) mit  $w_{jF}$  und  $w_{jP}$ : Massenanteil der Komponente  $j$  im Feed bzw. Permeat.<sup>[12]</sup>

Sind mehrere Komponenten in einer Lösung vorhanden, so ist der diffusive Stofftransport durch eine poröse Membran (Beispiel a) in hohem Maße von der Porengröße der Membran abhängig, d.h. die Membran stellt in diesem Fall eine Barriere mit Größenausschluss dar.

Die Diffusion von Teilchen durch ein poröses Material beschreibt man durch den effektiven Diffusionskoeffizienten, welcher den gesamten Porenraum betrachtet und die Porosität und Tortuosität der Membran berücksichtigt.

Um den Diffusionskoeffizienten für die Diffusion durch eine solche Membran ermitteln zu können, muss im Zuge eine Diffusionsmessung über einen bestimmten Zeitraum die Konzentrationsänderung des Systems aufgezeichnet werden. Anschließend erfolgt die Auswertung der Messwerte zur Berechnung des Diffusionskoeffizienten mit Hilfe der Gl. (2.4):

$$D = \frac{\Delta N \cdot x}{\Delta t \cdot A \cdot \varepsilon_p \cdot \Delta \tilde{c}} \quad (2.4)$$

- A: Membranfläche [m<sup>2</sup>]  
 x: Membrandicke [m]  
 $\Delta \tilde{c}$ : Mittelwert des Konzentrationsunterschieds zwischen Feed- und Permeat-Lösung von zwei benachbarten Messpunkten [mol/m<sup>3</sup>]  
 $\Delta N$ : Stoffmengendifferenz im Permeat zwischen zwei Messpunkten [mol]  
 $\Delta t$ : Zeitdifferenz zwischen zwei Messungen [s]  
 $\varepsilon_p$ : Volumenbezogene Porosität der Membran [-]

Dabei berechnet sich  $\Delta \tilde{c}$  mit Hilfe der Gl. (2.5):

$$\Delta \tilde{c} = \frac{c_n + c_{n+1}}{2} \quad (2.5)$$

- $c_n$ : Konzentrationsdifferenz zwischen Feed- und Permeat-Lösung am Messpunkt n  
 $c_{n+1}$ : Konzentrationsdifferenz zwischen Feed- und Permeat-Lösung am Messpunkt n+1

Ferner kann Gl. (2.4) umgestellt und erweitert werden, um die Zeit zu berechnen, die eine bestimmte Stoffmenge N benötigt um durch die Membran zu diffundieren.

$$t = \frac{\Delta N \cdot x}{D \cdot A \cdot \varepsilon_p \cdot \Delta c} + \frac{x^2}{6 \cdot D} \quad (2.6)$$

Eine weitere Möglichkeit den Substanztransport über eine Phasengrenze analog zu Gl. (2.4) zu beschreiben, ist die Berechnung des mittleren Stoffübergangskoeffizienten. Dieser ist eine Diffusionsgeschwindigkeitskonstante, welche aus dem Stoffmengenstrom, der Stoffübertragungsfläche und der Konzentrationsdifferenz als Triebkraft berechnet

werden kann. Bei dem Transport einer Komponente  $i$  von der Feed- zur Permeatseite einer Membran können generell drei Schritte beschrieben werden:<sup>[13]</sup>

- 1: Transport von der Feedphase zur Membranoberfläche
- 2: Diffusion durch die Membran
- 3: Transport von der Membranrückseite zur Permeatphase

Der Fluss ( $J$ ) einer Komponente  $i$  durch die Membran kann dann durch den Stoffdurchgangskoeffizient (Summe der einzelnen Stoffübergangskoeffizienten) ausgedrückt werden.

$$k = \frac{\dot{n}}{A \cdot \Delta c} \quad (2.7)$$

|              |   |             |                          |
|--------------|---|-------------|--------------------------|
| $k$ :        | Stoffdurchgangskoeffizient [m/s]              | $\dot{n}$ : | Stoffmengenstrom [mol/s] |
| $\Delta c$ : | Konzentrationsdifferenz [mol/m <sup>3</sup> ] | $A$ :       | Fläche [m <sup>2</sup> ] |

Eng verknüpft mit dem Stoffdurchgangskoeffizient ist die Sherwood-Zahl ( $Sh$ ). Diese dimensionslose Kennzahl beschreibt das Verhältnis der konvektiv übergehenden Stoffmenge zu der durch Diffusion transportierten. Die Sherwood-Zahl berechnet sich zu:

$$Sh = \frac{k \cdot l}{D_{eff}} \quad (2.8)$$

|        |                   |       |                             |
|--------|-------------------|-------|-----------------------------|
| $Sh$ : | Sherwood-Zahl [-] | $l$ : | charakteristische Länge [m] |
|--------|-------------------|-------|-----------------------------|

### 2.1.2 Porenflussmodell

Porenmembranen werden vor allem in der Ultra- und Mikrofiltration von wässrigen Lösungen eingesetzt, insbesondere bei der Abwasserbehandlung, bei der Konzentrierung, Fraktionierung oder Sterilisation von Lösungen aller Art in der Medizintechnik<sup>[14]</sup> oder in der Lebensmittelindustrie (z.B. bei der Filtration von Fruchtsäften und Milchprodukten). Der Fluss bzw. der Stofftransport durch poröse Membranen kann durch Konvektion erfolgen und wird mit Hilfe des Porenflussmodells beschrieben. Dieses basiert auf einer Membran mit parallel angeordneten Poren (Kapillaren) mit gleichem Durchmesser, wobei

eine laminare Strömung vorliegt und der Fluss durch eine solche Membran mit Hilfe der HAGEN-POISSEUILLE-Gleichung berechnet werden kann.

$$Q = \frac{\varepsilon_p r^4 \Delta P}{8 \eta \tau \Delta x} \quad (2.9)$$

Q: Volumenstrom [m<sup>3</sup>/s]                      τ: Tortuosität [-]  
ΔP: transmembraner Druck [Pa]

Jedoch gibt es Einschränkungen bei der Verwendung von Gl. (2.9). Das Gesetz von HAGEN-POISSEUILLE gilt nur bei NEWTON'schen Fluiden und kann in der Praxis streng genommen nur bei der Verwendung von *track-etched*-Membranen angewendet werden.<sup>[15]</sup> Besitzt die Membran jedoch eine anisotrope Membranstruktur, bestehend aus einer mesoporösen trennselektiven Oberflächenschicht und einer makroporösen Stützsicht, kann Gl. (2.9) ohne weitere Annahmen/Vereinfachungen bzw. ohne die Kombination mit anderen Modellen<sup>[16]</sup> nicht verwendet werden, um den Fluss durch eine solche Membran exakt zu berechnen.

Der Fluss durch die Membran ist eng mit dem Volumenstrom durch eine Membran verknüpft. Mathematisch betrachtet sind diese beiden Größen mit der jeweiligen Membranfläche verknüpft, da der Fluss als Quotient aus Volumenstrom und Membranfläche definiert ist.

$$J = \frac{Q}{A} \quad (2.10)$$

Bezieht man nun den Fluss durch eine Membran auf den vorherrschenden transmembranen Druck (TMD), so gelangt man zu der entsprechenden Permeabilität ( $L_p$ ) (lat.: *permeare* „durchlassen“) der Membran. Die Permeabilität bezeichnet bei Festkörpern die Eigenschaft, Gase und/oder Flüssigkeiten passieren zu lassen. Die Permeabilität ist immer mit dem Fluss durch die Membran verknüpft und kann empirisch nach Formel (2.11) berechnet werden.



$$L_p = \frac{J}{\Delta P} \quad (2.11)$$

$L_p$ : Permeabilität [ $\text{m}^3/\text{m}^2 \text{ s Pa}$ ]

Entgegen der Angaben in Formel (2.11) ist es jedoch allgemein üblich, die Permeabilität einer Membran in [ $\text{L}/\text{m}^2 \text{ h bar}$ ] anzugeben, sodass nicht nur ausschließlich SI-Basiseinheiten verwendet werden.

### 2.1.3 DONNAN-Effekt

Neben den bereits beschriebenen Transportprozessen im Lösungs-Diffusions-Modell und im Porenflussmodell spielen auch elektrostatische Kräfte bei dem Transport geladener Teilchen (Ionen oder Proteine) durch eine Membran eine entscheidende Rolle. So tritt der nach dem britischen Chemiker FREDERICK GEORGE DONNAN benannte DONNAN-Effekt auf, wenn eine Membran für das Lösungsmittel und einige, nicht jedoch alle in der Lösung vorhandenen geladenen Teilchen durchlässig ist. Das ist beispielweise bei einer Membran mit festen negativen Ladungsträgern (funktionelle chemische Gruppen, z.B.  $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{SO}_3^-$ ,  $-\text{PO}_3^{2-}$ ) der Fall, wenn diese Membran in Kontakt mit einer wässrigen Lösung bestehend aus Kationen und Anionen (z.B. einer wässrigen KCl Lösung) steht. Während die gelösten Kationen durch die Membran permeieren können, werden die gelösten Anionen aufgrund der repulsiven elektrostatischen Wechselwirkung retentiert. In diesem Fall verteilen sich dadurch die Ionen auf beiden Seiten der Membran in unterschiedlicher Konzentration. Ein System ist jedoch nur im Gleichgewicht, wenn die chemischen Potentiale des Lösungsmittels und der anderen durchgelassenen Substanzen auf beiden Seiten der Membran gleich sind. Bei Anwesenheit von Ladungsträgern muss zusätzlich auf beiden Seiten im Volumen (jenseits der Doppelschicht) die Summe der Ladungen ausgeglichen und damit frei von einer Nettoladung sein. Ist auf einer Seite der Membran eine nicht permeierende Ionensorte stärker konzentriert (im genannten Beispiel die Anionen), muss das durch permeierende Kationen kompensiert werden. Deren Konzentration ist daher im Gleichgewicht auf beiden Seiten unterschiedlich. Mit dieser Ungleichverteilung ist eine Potentialdifferenz verbunden. Die folgende Abb. 2.2 illustriert diesen Fall.

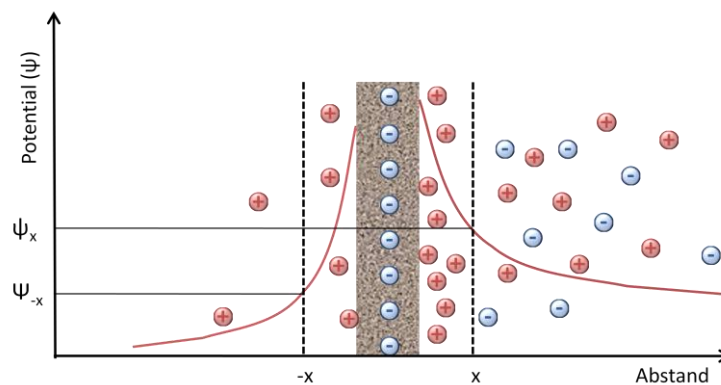


Abb. 2.2: Schematische Darstellung der Ionenverteilung an der Membran-Lösung Grenzfläche und das korrespondierende Potential als Funktion des Abstandes. (Abb. angepasst nach<sup>[12]</sup>)

Die Größe der sich aufbauenden Potentialdifferenz ist dabei von mehreren Faktoren abhängig:

- Ladungsdichte der Membran
- Ionenstärke der Lösung
- Anzahl der Valenzen der Ionen

Das vorliegende Beispiel gilt selbstverständlich auch im umgekehrten Fall, also bei einer Membran mit positiven Ladungsträgern (z.B.  $-\text{NR}_2\text{H}^+$ ,  $-\text{NRH}_2^+$ ,  $-\text{NH}_3^+$ ), bei der Kationen nicht permeieren können. Membranen mit festen Ladungsträgern können jedoch unterschiedlich aufgebaut sein. Bei den eben beschriebenen klassischen Anionen- oder Kationenaustauschermembranen sind die Festladungen über die gesamte Membranmatrix verteilt,<sup>[17,18]</sup> während bei nachträglich oberflächenmodifizierten Kompositmembranen die Ladungsträger nur auf der Oberfläche der Membran vorhanden sind.<sup>[19,20]</sup>

Darüber hinaus erhält man zusätzliche Möglichkeiten bei der Prozessführung mit Membranen, welche sowohl anionische als auch kationische Festladungen besitzen und bei denen somit ein amphoter System vorliegt, dessen Nettoladung von dem pH-Wert abhängig ist. Dadurch ergeben sich Membranen, welche in Abhängigkeit des pH-Wertes unterschiedliche Komponenten der Feedlösung aufgrund der vorliegenden Elektrostatik permeieren lassen oder diese retentieren.<sup>[21–24]</sup>

### 2.1.4 Widerstandsmodell

Eine quantitative Aussage des letztendlich makroskopisch zu beobachtenden gesamten Transportverhaltens der Membran ist mit Hilfe des Widerstandsmodells möglich. Dabei wird für jede Komponente separat und für jeden Bereich der Membran (Oberflächenmodifizierung, trennselektive Schicht, Stützschrift, usw.) den einzelnen Transportschritten entsprechende Widerstände zugeordnet und diese in einem Schaltbild parallel und/oder in Reihe verschaltet.<sup>[12,13,25]</sup> Das Modell erstellt eine Analogie zwischen dem Stofftransport durch die Membran und dem OHM'schen Gesetz wobei die Triebkraft der Spannung, der Permeatfluss dem Strom und die Permeabilität der Leitfähigkeit entspricht. Dadurch ergibt sich der Gesamtwiderstand von

- in Reihe geschalteten Teilschritten durch Addition ( $R_{\text{ges}} = \sum R_i$ )
- parallelen Schritten durch Addition der reziproken Einzelwiderstände

$$R_{\text{ges}} = (\sum 1/R_i)^{-1}$$

Abb. 2.3 zeigt schematisch die Analogiebeziehung des Widerstandmodells.

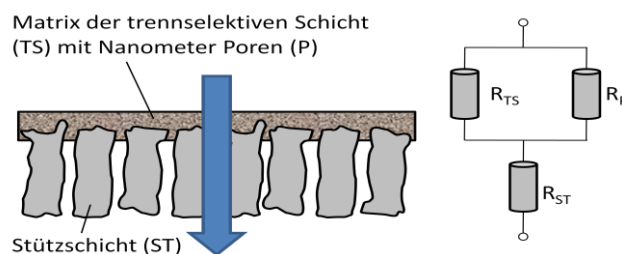


Abb. 2.3: Analogiebeziehung des Widerstandmodells.<sup>[12]</sup>

Der Gesamtwiderstand ( $R_M$ ) entsprechend dem Beispiel aus Abb. 2.3 ergibt sich somit zu:

$$R_M = R_{st} + \left( \frac{1}{R_{ts}} + \frac{1}{R_p} \right)^{-1} \quad (2.12)$$

$R_M$ : Gesamtwiderstand der Membran [ $m^{-1}$ ]

Der Fluss durch eine poröse Membran kann wiederum durch die Beziehung (2.13) beschrieben werden:

$$J = \frac{\Delta P}{\eta \cdot R_M} \quad (2.13)$$

## 2.2 Ultrafiltration

### 2.2.1 Herstellung von Membranen

Innerhalb der Membrantechnologie existieren mehrere Herstellungsmethoden für Membranen. Bei der Produktion von Membranen aus organischen Polymeren findet das Prinzip der Phasenseparation (PS) am Häufigsten Anwendung.<sup>[26]</sup> Dabei wird eine konzentrierte Polymerlösung auf ein Substrat (z.B. Glasplatte, Polypropylen- oder Cellulosevlies etc.) in der gewünschten Schichtdicke ausgestrichen (gerakelt) und anschließend durch unterschiedliche Induzierungsverfahren eine Phasenseparation herbeigeführt. Dabei ist es möglich ein Nichtlösungsmittel über die Dampfphase in die Polymerlösung einzubringen und die Phasenseparation zu induzieren. Diese Herstellung bezeichnet man als „*Vapor Induced Phase Separation*“ (VIPS) und ist eines der ältesten angewandten Membranherstellungsprozesse.<sup>[27]</sup> Darüber hinaus kann eine Temperaturerniedrigung der Polymerlösung genutzt werden, um eine Phasenseparation hervorzurufen. Dieser Prozess wird als „*Thermal Induced Phase Separation*“ (TIPS) bezeichnet.<sup>[28]</sup> Zusätzlich gibt es die Möglichkeit, die Phasenseparation durch Lösungsmittelveaporation „*Evaporation Induced Phase Separation*“ (EIPS)<sup>[29]</sup> herbeizuführen oder ein Nichtlösungsmittel „*Nonsolvent Induced Phase Separation*“ (NIPS) für das Polymer zu verwenden, welches technisch am häufigsten Anwendung findet.<sup>[30–34]</sup> Letztgenannte Methode fand in dieser Arbeit Anwendung und wird nun im Folgenden näher erläutert.

### 2.2.2 Nichtlösungsmittel induzierte Phasenseparation (NIPS)

Die häufige Anwendung des NIPS Prozesses ist vorallem durch die technisch relativ einfache Prozessführung begründet, da nur Flüssigkeiten zum Einsatz kommen, was besonders in Hinsicht auf die Arbeitssicherheit und Emission von Giftstoffen relevant ist. Der ablaufende Fällungsprozess ist jedoch sehr komplex und es existieren viele Parameter, die das Produkt stark beeinflussen können.

Der Prozess startet mit einer thermodynamisch stabilen Polymerlösung, die auf ein geeignetes Substrat (Metall, Glas oder Vlies) gerakelt wird. Der dünne Polymerlösungsfilm wird dann in ein Fällungsbad gegeben, welches aus einem Nichtlösungsmittel (NLM) für das Polymer besteht. Dies ist im einfachsten Fall Wasser. Das Fällungsmittel und das Lösungsmittel (LM) müssen dabei miteinander mischbar sein. Durch das Eintauchen des Polymerfilms in das Fällungsbad erfolgt ein Austausch des Lösungsmittels durch das Nichtlösungsmittel. Damit liegt bei diesem Fällungsprozess ein Dreikomponentensystem vor. Um diesen Vorgang näher zu beschreiben, wird ein Dreieckdiagramm (siehe Abb. 2.4) zu Hilfe genommen. Jede Ecke des Dreieckdiagramms repräsentiert dabei 100 % einer Komponente (Polymer, LM, NLM). Die Binodalkurve trennt den thermodynamisch stabilen von dem instabilen Bereich und beschreibt somit die vorhandene Mischungslücke des Systems. Des Weiteren existiert noch die Spinodalkurve, welche für manche Systeme den metastabilen Bereich abgrenzt. Der Verlauf der Kurve in dem Dreiphasendiagramm stellt dabei einen zeitlichen Verlauf dar. Hinzu kommt, dass nur das Volumen des Polymerfilms betrachtet wird, wohingegen das Fällungsbad als unendlich groß angenommen wird.

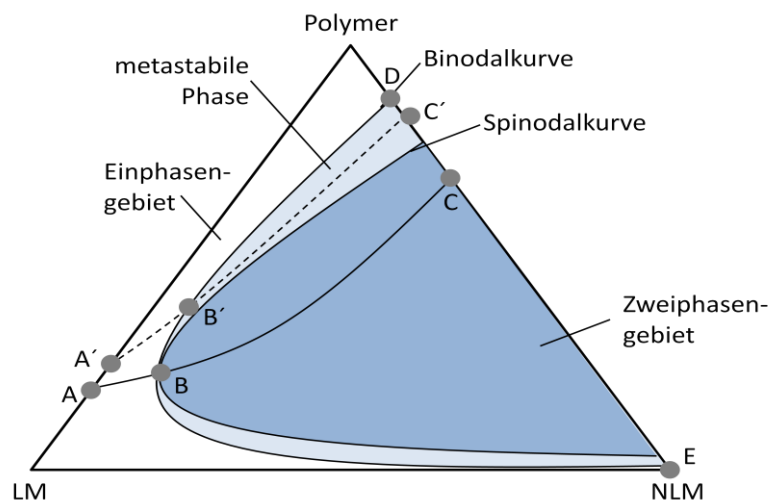


Abb. 2.4: Dreiphasendigramm zur Beschreibung der Membranbildung nach dem NIPS Prozess. Abbildung angepasst nach <sup>[35]</sup>

Der Punkt A in Abb. 2.4 kennzeichnet die Mischung einer Polymer- bzw. Rakellösung und dient als „Startpunkt“. Sobald der gerakelte Polymerfilm in das Fällungsbad eingetaucht wird, liegt nun ein Dreikomponentensystem vor und der Lösungsmittelaustausch beginnt. Das Dreikomponentensystem bewegt sich noch im thermodynamisch stabilen Bereich auf die Mischungslücke (Binodalkurve bzw. Spinodalkurve) zu. Sobald das Dreikomponentengemisch (Polymer/LM/NLM) den Punkt B erreicht, beginnt die spontane Phasenseparation. Der fortschreitende Austausch des LM durch das NLM führt zu einem weiteren Erhärten der polymerreichen Phase. Im Punkt C ist der Fällungsvorgang beendet und das LM vollständig durch das NLM ausgetauscht. Es liegen nun zwei Phasen vor: Zum Einen eine polymerreiche feste Phase, deren Zusammensetzung durch den Punkt D gegeben ist und die gleichzeitig die Membran bildet, zum Anderen eine flüssige Phase ohne Polymeranteil, gekennzeichnet durch den Punkt E, welche das mit Fällungsmittel gefüllte Porenvolumen darstellt. Dieser zeitliche Verlauf der Phasenseparation beschreibt einen spontanen Prozess wie er typischerweise bei der Bildung von anisotropen Membranen auftritt, welche über eine engporige trennselektive Oberflächenschicht und ein makroporöses Stützgerüst mit Fingerporen (oder auch *Macro-Voids* genannt) verfügen.

*Macro-Voids* werden bei dem Fällungsprozess gebildet, wenn das Nichtlösungsmittel schneller in den Polymerfilm hinein diffundiert als das Lösungsmittel heraus und des Weiteren die „Keimwände“ der polymerarmen Phase deformierbar sind. Bei einer sehr schnellen Fällungsfront (Phasengrenze zum Nichtlösungsmittel) können in den Fällungskeimen Drücke von bis 100 bar auftreten. Dabei ist der lokale osmotische Druck die Haupttriebkraft.<sup>[36,37]</sup> Durch diese hohen Drücke werden die Wände der polymerarmen Phasen deformiert wodurch sich fingerförmige Hohlräume bilden.<sup>[38]</sup> Dieser Effekt wird durch eine geringe Viskosität und damit einhergehender Beweglichkeit des Systems unterstützt.

Viele Faktoren beeinflussen jedoch die Geschwindigkeit des Phasenseparationsprozess durch ein Fällungsmittel und haben dadurch enormen Einfluss auf die Struktur der sich ausbildenden Membran. Dazu zählen vor allem:

- der Polymeranteil in der Polymerlösung
- Hydrophilie/Lipophilie der Polymerphase
- Temperatur
- Viskosität der Polymerlösung
- Additive (z.B. PVP, Pluronic® oder Tetronics® zur Erhöhung der Hydrophilie oder Salze zur Komplexierung des Lösungsmittels, z.B. LiBr)

Ein solches Beispiel ist ebenfalls in Abb. 2.4 mit Hilfe des gestrichelten Verlaufes dargestellt. Ausgehend von der Polymerlösung (Punkt A') startet die Phasenseparation und erreicht den metastabilen Bereich. Beim Erreichen des Punkts B' tritt ein verlangsamter Fällungsprozess auf, wie er z.B. durch eine sehr hohe Viskosität der Polymerlösung (durch Additive wie z.B. LiBr) oder durch die entsprechende Zusammensetzung der Polymerlösung (Wahl des Lösungsmittels, Anteil des Polymers) verursacht werden kann. Das hat zur Folge, dass die Bildung und Auflösung von Fällungskeimen nahezu im Gleichgewicht ist und keine spontane Fällung mehr auftritt. Dadurch kann die Bildung von *Macro-Voids* unterdrückt werden. Gleichzeitig werden die Keimwände der polymerarmen Phasen auch durch vorhandene Polymeraggregate gestärkt, sodass eine Deformierung erschwert wird. Das Resultat ist die Bildung vieler

kleiner Hohlräume. Durch das nachströmende Nichtlösungsmittel bzw. durch den lokalen Druck werden diese Hohlräume geöffnet und bilden somit weitere Hohlräume. Diese sind untereinander verbunden, wodurch im Gesamtbild eine offenporige Schwammstruktur entsteht. An Punkt C' ist der Fällungsvorgang wieder abgeschlossen und Punkt D und E kennzeichnen erneut die zwei vorliegenden Phasen.

Im Vergleich der beiden exemplarischen Fällungsverläufe, unter besonderer Betrachtung der Endpunkte C und C', erkennt man, dass der spontane und verlangsamte Fällungsprozess zu unterschiedlichen Membranstrukturen führen müssen. Der spontane Fällungsprozess führt zu anisotropen Membranen mit einer trennselektiven Schicht, wohingegen man einem verlangsamten Fällungsprozess eine Membran mit einer komplett gleichmäßigen Schwammstruktur erhält, welche aus der langsamen Bildung von Fällungskeimen resultiert.

### 2.2.3. Ultrafiltrationsmembranen

Die Benennung eines Filtrationsverfahrens basiert auf dem Grad der Größenabtrennung. Lassen sich Partikel in einem Größenbereich von etwa 100 - 2 nm aus einem Filtrationsmedium abtrennen, so nennt man ein solches Verfahren Ultrafiltration. Zum Vergleich wird ein Verfahren, das Partikel in einem Größenbereich von 0,5 - 0,1  $\mu\text{m}$  abtrennt als Mikrofiltration bezeichnet.<sup>[36]</sup> Die in Abb. 2.5 dargestellte Übersicht erlaubt eine Einschätzung des Arbeitsbereiches einer Ultrafiltrationsmembran in Relation zu einigen verwandten Filtrations- oder Membranverfahren.

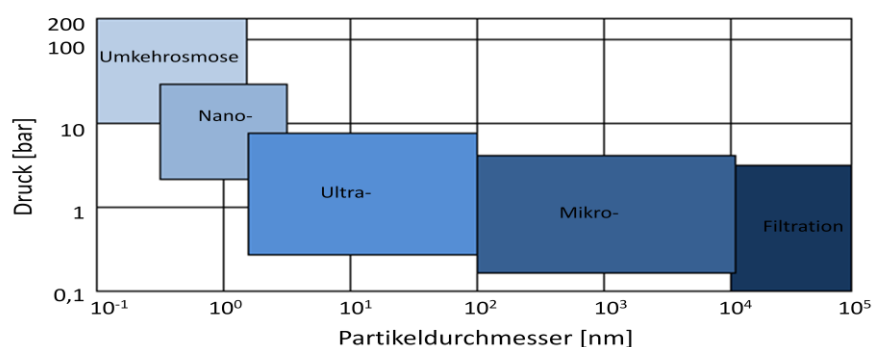


Abb. 2.5: Einordnung verschiedener Filtrationsverfahren.<sup>[12,36]</sup>



Die Ultrafiltration stammt aus dem Bereich der Membrantechnik, mit deren Hilfe sich makromolekulare Substanzen und kleine Partikel (beispielsweise Proteine, Zellbestandteile, Viren etc.) aus einem Medium abtrennen und aufkonzentrieren lassen. Membranen stellen bei einem Filtrationsprozess eine größenselektive Barriere dar. Dabei können Partikel, deren Durchmesser kleiner ist als der Porendurchmesser, die Membran passieren, wohingegen größere Partikel die Membran nicht passieren können und zurückgehalten werden. Die Trennwirkung einer porösen Membran ist schematisch in Abb. 2.6 dargestellt.

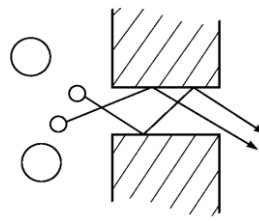


Abb. 2.6: Größenausschlussprinzip einer porösen Membran.<sup>[35]</sup>

Die Ausschlussgrenze oder auch „Cut-Off“ einer Ultrafiltrationsmembran wird üblicherweise in Form des NMWCO (englisch: *Nominal Molecular Weight Cut-Off*, auch MWCO, *Molecular Weight Cut-Off*, Einheit: DALTON) angegeben. Dieser beschreibt das Molekulargewicht eines globulären Moleküls, das durch die Membran zu 90 % zurückgehalten wird.<sup>[35]</sup> In der Praxis sollte der MWCO aufgrund der Porengrößenverteilung der Membran mindestens 20 % niedriger sein als die Molmasse des aufzukonzentrierenden Moleküls. Jedoch existieren keine standardisierten Vorschriften, um diesen MWCO zu definieren und für eine bestimmte Membran festzulegen. Somit könnten der deklarierte *Cut-Off* und der tatsächliche *Cut-Off* einer kommerziellen Membran beträchtlich voneinander abweichen.

J.D. FERRY stellte das erste Modell zur näheren Beschreibung des Rückhaltes einer Komponente durch Größenausschluss durch eine Membran auf,<sup>[39]</sup> welches später von E.M. RENKIN erweitert wurde.<sup>[40]</sup> Das heute bekannte FERRY-RENNIN-Modell<sup>[35,39,40]</sup> geht dabei von zylindrischen Poren mit gleichem Radius ( $r_p$ ) aus, welche im Vergleich zum Radius der Lösungsmittelmoleküle groß sind. Demnach steht die gesamte Porenfläche

( $A_0$ ) für den Transport der Lösungsmittelmoleküle zur Verfügung. Für gelöste Moleküle mit dem Radius ( $r_M$ ) welcher in der gleichen Größenordnung wie der Porenradius liegt, steht demnach nicht die gesamte Porenfläche für den Transport durch die Membran zur Verfügung, sondern ist reduziert zu:

$$A' = \pi(r_p - r_M)^2 \quad (2.14)$$

$A'$ : Fläche für den Molekültransport [ $m^2$ ]       $r_M$ : Molekülradius [m]  
 $r_p$ : Porenradius [m]

Die folgende Abb. 2.7 veranschaulicht diesen Sachverhalt.

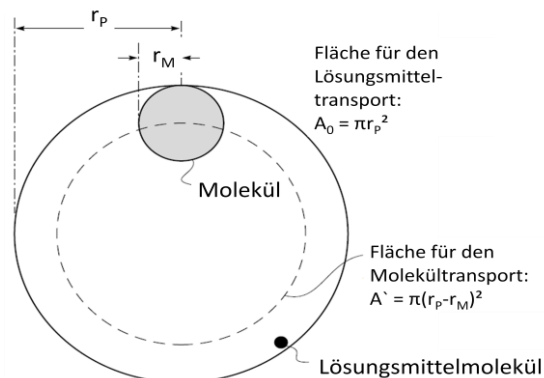


Abb. 2.7: Darstellung des FERRY-RENKIN-Modells. <sup>[35]</sup>

Kombiniert man die reduzierte Zugänglichkeit der Partikel mit einem parabolischen Geschwindigkeitsprofil in den Poren (analog zur HAGEN-POISEUILLE Gl.) erhält man eine reduzierte Porenfläche  $A'$  welche direkt proportional zur Konzentration der permeierenden Komponente  $c_{i,p}$  ist.

$$\frac{c_{i,p}}{c_{i,F}} = \left( \frac{A'}{A_0} \right) = 2 \left( 1 - \frac{r_M}{r_p} \right)^2 - \left( 1 - \frac{r_M}{r_p} \right)^4 \quad (2.15)$$

$c_{i,p}$ : Konzentration der Komponente i im Permeat (mol/L)  
 $c_{i,F}$ : Konzentration der Komponente i im Feed (mol/L)

Der Rückhalt einer Komponente i ( $R_i$ ) ergibt sich generell zu:

$$R_i = \left( 1 - \frac{c_{iP}}{c_{iF}} \right) \cdot 100\% \quad (2.16)$$

Kombiniert mit Gl. (2.15) ergibt sich der Rückhalt zu:

$$R_i = \left[ 1 - 2 \left( 1 - \frac{r_M}{r_P} \right)^2 - \left( 1 - \frac{r_M}{r_P} \right)^4 \right] \cdot 100\% \quad (2.17)$$

Die Selektivität einer Membran gibt hingegen an, inwiefern ein Bestandteil eines Mehrkomponentengemisches stärker durch die Membran zurückgehalten wird, als eine andere Komponente desselben Gemisches. Dementsprechend ist die Selektivität eine dimensionslose Größe. Für zwei Bestandteile A und B des Filtrationsmediums ergibt sich die Selektivität somit nach der Gleichung:<sup>[41]</sup>

$$S_{A/B} = \frac{y_A / y_B}{x_A / x_B} \quad (2.18)$$

$S_{A/B}$ : Selektivität der Membran im Bezug auf die Komponenten A und B  
 $y_A$  bzw.  $y_B$ : Konzentration der Komponente A bzw. B im Permeat [mg/L]  
 $x_A$  bzw.  $x_B$ : Konzentration der Komponente A bzw. B im Feed [mg/L]

## 2.2.4 Flussverringering während der Ultrafiltration

Eines der größten Probleme, die während einer Ultra- oder Mikrofiltration auftreten, ist der Verlust des Filtratflusses. Der Verlauf des Permeatflusses über die Zeit kann prinzipiell in drei Phasen eingeteilt werden und ist schematisch in Abb. 2.8 dargestellt.

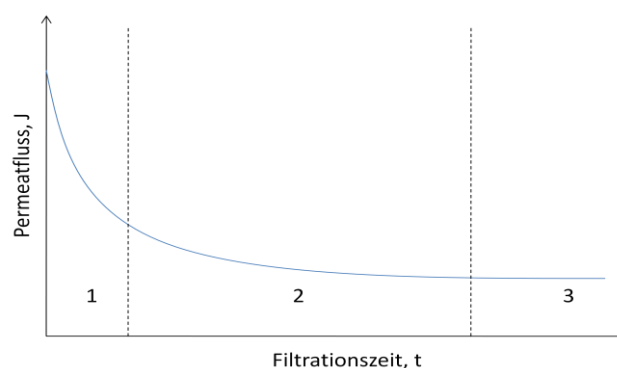


Abb. 2.8: Schematische Übersicht über den Verlauf des Flussverlustes.<sup>[42]</sup>

Der Flussverlust bei Membranfiltrationen basiert auf einer Erhöhung des Membranwiderstandes durch das Auftreten von Konzentrationspolarisation und Membran-*Fouling*. Der rapide Flussverlust in Phase 1 wird vor allem durch eine schnelle Porenblockade der Membranporen durch die retentierten Komponenten verursacht.<sup>[43]</sup> Der weitere Flussverlust in Phase 2 wird durch die Bildung und das permanente Wachstum einer Filterkuchenschicht hervorgerufen. Das Erreichen eines stationären Zustandes in Phase 3 tritt bei einer Cross-Flow-Filtration auf wenn die Filterkuchenschicht ihr Maximum erreicht hat und aufgrund der vorhandenen Scherkräfte nicht mehr weiter anwächst. Hingegen kann bei einer Filtration im Dead-End-Modus der Membranfluss immer weiter abfallen und gegen Null tendieren, was auf dem sich stetig erhöhenden osmotischen Druck zurückzuführen ist.<sup>[44]</sup>

### 2.2.5 Konzentrationspolarisation

Ziel der Ultrafiltration ist es, Komponenten eines Filtrationsmediums durch die Membran selektiv zurückzuhalten, wodurch sich Selbige im Feedstrom mit fortschreitender Filtrationsdauer immer weiter an der Membranoberfläche anreichern. Dieses Phänomen wird Konzentrationspolarisation (CP) genannt und tritt augenblicklich nach Beginn der Filtration auf. Dabei gibt es mehrere Modelle (Grenzschichtmodell, Gel-Polarisationsmodell, Widerstandsmodell), um die Mechanismen einer Konzentrationspolarisation zu beschreiben.<sup>[45]</sup> Die Bildung von einer Konzentrationspolarisation basierend auf der Filmtheorie (Grenzschichtmodell) wird nun näher beschrieben.

Der Konzentrationsanstieg der retentierten Komponenten im Feed verknüpft mit der Tatsache, dass der tangentielle Volumenstrom an der Membranoberfläche bedingt durch die auftretende Reibung fast bis auf Null herabgesetzt ist, führt zu der Ausbildung eines starken Konzentrationsgefälles sowie einer laminaren Grenzschicht direkt an der Membranoberfläche. Die Akkumulation der zurückgehaltenen Komponenten des Feedstroms an der Membranoberfläche wird dabei als Konzentrationspolarisation bezeichnet und wirkt sich negativ auf den beobachteten transmembranen Fluss und die

Selektivität der Membran aus.<sup>[46]</sup> Die Ausbildung der Konzentrationspolarisation sowie die zugrunde liegenden Stofftransporte sind in Abb. 2.9 beschrieben.

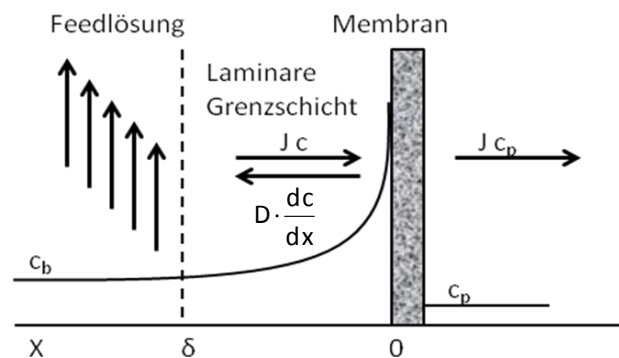


Abb. 2.9: Schematische Darstellung der Konzentrationspolarisation.<sup>[13]</sup>

J: Fluss [L/h m<sup>2</sup>]; D: Diffusionskoeffizient [m<sup>2</sup>/s]; c<sub>p</sub>: Permeat Konzentration, c<sub>b</sub>: Bulk Konzentration [mol/L].

Während der Filtration liegt ein konvektiver Stofftransport der Feedkomponenten aus der Feedlösung hin zur Membranoberfläche vor, wobei Partikel, deren Durchmesser größer sind als der Porendurchmesser der Membran, diese nicht passieren können. Somit lagern sich diese Bestandteile der Feedlösung an der Membranoberfläche ab, was gleichzeitig mit einem Konzentrationsanstieg dieser Partikel entlang der Achse senkrecht zur Membranoberfläche verbunden ist. Aufgrund dessen wird ein diffusiver Stofftransport von der Membranoberfläche zurück zur Feedlösung und entgegen dem konvektiven Fluss induziert,<sup>[13]</sup> wobei der Konzentrationsunterschied der Partikel gleichzeitig einen dem Filtrationsdruck entgegengerichteten osmotischen Druck zur Folge hat. Als Resultat nimmt der transmembrane Filtrationsfluss vor allem zu Beginn einer Filtration durch das Ausbilden der Konzentrationspolarisation ab.<sup>[47]</sup> Dennoch kann generell zu jedem Zeitpunkt der Filtration ein stationärer Zustand der Stoffströme zwischen dem Feed- und dem Permeatstrom erreicht werden. Dieser stationäre Zustand ergibt sich nach Gl. (2.19).

$$J \cdot c + D \cdot \frac{dc}{dx} = J \cdot c_p \quad (2.19)$$

Dieser Zustand wird erreicht, wenn die Summe aus konvektiven und diffusiven Stofftransport auf der Feedseite dem konvektiven Stofftransport im Permeat entspricht.

Wird Gl. (2.19) über die gesamte Dicke der laminaren Grenzschicht  $\delta$  integriert erhält man die Polarisationsgleichung (2.20):

$$e^{j\delta D_i} = \frac{c_{i,0} - c_{i,p}}{c_{i,F} - c_{i,p}} \quad (2.20)$$

$c_{i,0}$ : Konzentration der Komponente  $i$  an der Membranoberfläche [mol/L]

$c_{i,F}$ : Konzentration der Komponente  $i$  im Feed [mol/L]

Es sind mehrere Parameter bekannt, die einen Einfluss auf die Dicke und die Dichte der Konzentrationspolarisationsschicht haben. So hat der vorherrschende Transmembrandruck einen Einfluss auf die Dicke (und Dichte) der CP Schicht, wohingegen Wechselwirkungen der Partikeln untereinander vor allem die Dichte der CP Schicht beeinflussen. Dominieren repulsive Kräfte zwischen den Partikeln, kann der Permeatfluss vergrößert werden, bedingt durch die Tatsache das es einen starken diffusiven Rücktransport der Partikel in die Feedlösung gibt, wodurch wiederum die Konzentration der Partikel an der Membranoberfläche reduziert wird.<sup>[48,49]</sup> Sind mehrere Komponenten in der Feedlösung vorhanden, können zwei Phänomene diskutiert werden, bei denen die Ladung und Durchmesser der Partikel eine entscheidende Rolle spielen: Für den Fall, dass zwei unterschiedliche Proteine mit entgegengesetzter Nettoladung in der Feedlösung vorliegen, kann ein erhöhter Widerstand der CP Schicht beobachtet werden. Ein erhöhter Widerstand kann ebenfalls auftreten, wenn die Proteine in ihrem hydrodynamischen Durchmesser variieren, da hier eine kompaktere Anreicherung an der Membranoberfläche (verbunden mit der Bildung einer Filterkuchenschicht) beobachtet wird.<sup>[45,48,50]</sup>

Die Reduktion der Flussleistung aufgrund von Konzentrationspolarisation führt bei der Filtration zu dem so genannten kritischen Fluss. Dieser beschreibt den Zustand, ab dem eine Erhöhung des transmembranen Druckes nicht zu einer proportionalen Zunahme des Flusses führt<sup>[35]</sup> und somit vom linearen Verhalten des Wasserflusses vom angelegten Druck abweicht.<sup>[51,52]</sup> Somit ist ein kritischer Fluss mit einem kritischen transmembranen Druck verbunden. Für die Filtration eines gegebenen Mediums sollte der kritische Fluss

der verwendeten Membran bekannt sein, damit sowohl der Druck als auch der Feed-Volumenstrom so eingestellt werden können, dass der kritische Fluss während der Filtration nicht erreicht wird, wodurch eine unökonomische Filtration verhindert werden kann.

### 2.2.6 Membran-Fouling

Membran-Fouling (engl. Verschmutzung, Bewuchs) bezeichnet in der Membrantechnik die Verschmutzung von Filtermembranen durch die unerwünschte Ablagerung und Wechselwirkung der Feedkomponenten (beispielsweise Proteine, Kolloide oder Zellbestandteile) mit der Membranoberfläche, der Porenöffnung sowie der inneren Porenstruktur.<sup>[41]</sup> Es ist verantwortlich für einen Leistungsverlust und eine veränderte Selektivität der Membran. Typische Wechselwirkungen sind dabei Coulomb-Coulomb, und van-der-Waals Wechselwirkungen, aber auch hydrophobe Eigenschaften der Membran bzw. der Feed-Bestandteile können eine Grundlage für ein Membran-Fouling bilden.<sup>[53]</sup> Durch das Auftreten von Membran-Fouling erhöht sich der Aufwand eines Filtrationsprozesses durch

- eine verringerte Laufzeit der Membran
- nötige Reinigungsschritte
- einen verringerten transmembranen Fluss sowie
- zusätzliche Arbeit zur Optimierung der Strömungsverhältnisse zur Reduktion von Membran-Fouling.<sup>[35]</sup>

Man unterscheidet prinzipiell zwischen zwei Arten von Membran-Fouling. Zum einen existiert Membran-Fouling auf der Grundlage von Adsorption, welches irreversibel ist und nicht durch physikalische Reinigungsschritte entfernt werden kann. Zum anderen besteht die Möglichkeit der Bildung einer Filterkuchenschicht, was einen reversiblen Prozess darstellt und z.B. durch Rückspülen oder externe Reinigungsschritte rückgängig gemacht werden kann.<sup>[54]</sup>

Zu Beginn einer Proteinfiltration tritt Membran-Fouling vor allem durch hydrophobe Protein-Membran Wechselwirkungen auf, während ein fortgeschrittenes Membran-

*Fouling* vor allem durch Protein-Protein Wechselwirkungen (Wechselwirkung der Feed-Proteine mit dem Deposit auf der Membranoberfläche) die Membranleistung reduziert.<sup>[55,56]</sup>

Die Ablagerung von gelösten Substanzen und die Bildung einer Filterkuchenschicht kann ebenfalls mit Hilfe der Thermodynamik erläutert werden. In Abhängigkeit der Durchmesser, Nettoladung und Eigenschaften der Partikel existiert wie in Kap. 2.2.3 bereits beschrieben, eine maximale Konzentration der Partikel innerhalb der CP Schicht (maximaler osmotischer Druck). Ein weiterer Anstieg des Druckes kann nicht mehr durch die osmotische Energie kompensiert werden, wodurch die Partikel durch die CP Schicht zur Membranoberfläche gelangen und sich dort ablagern.<sup>[44,48,57]</sup>

Die Nano-, Ultra- und Mikro-Filtrationsprozesse werden durch diese Filterkuchenbildung (Deckschichtbildung) sehr stark negativ beeinflusst. Die Minimierung dieser Filterkuchenbildung ist daher auch der Hauptgrund für die energieaufwendigere Cross-Flow-Filtration. Membran-*Fouling* führt wie das Auftreten einer Konzentrationspolarisation zu einem reduzierten transmembranen Fluss, einer veränderten Selektivität, einem veränderten transmembranen Druck und zu einer verringerten Lebensdauer der Membran.<sup>[58]</sup> Die Selektivität einer Membran kann durch *Fouling* dahingehend beeinflusst werden, dass die Ausschlussgrenze durch das Verengen der Poren herabgesetzt wird und somit beispielsweise aus einer Ultrafiltration eine Nanofiltration werden kann. Die Art und Stärke des jeweilig auftretenden *Fouling*s hängt jedoch von verschiedenen Parametern ab. Die relevanten Einflussgrößen sind dabei

- die Beschaffenheit/Zusammensetzung der Feedlösung (Konzentration, pH-Wert, Ionenstärke)
- der Membranprozess selbst (MF, UF etc.)
- die Porengrößenverteilung der Membran
- das jeweilige Membranmaterial
- die Strömungsdynamik und die Prozessparameter (Druck, Fluss, Strömungsrichtung, Viskosität des Mediums, Temperatur etc.)

In Abb. 2.10 ist schematisch das Auftreten von Membran-*Fouling* aufgezeigt.



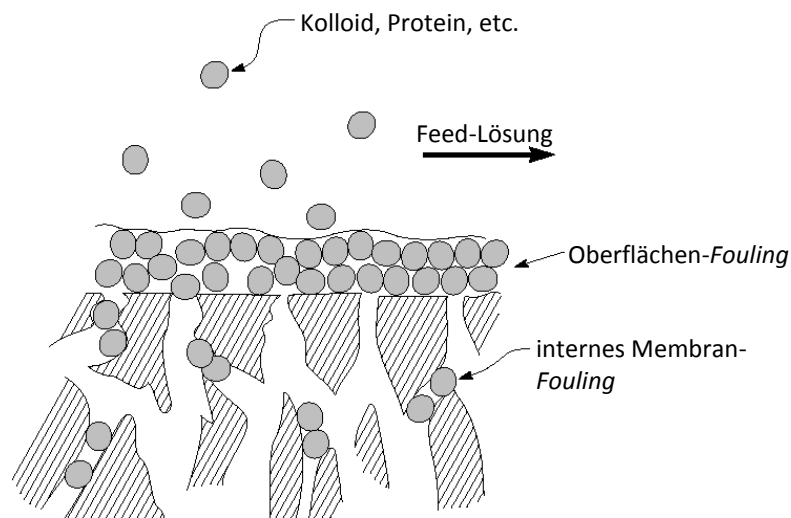


Abb. 2.10: Schematische Darstellung der Bildung von Membran-Fouling.<sup>[35]</sup>

Das in Abb. 2.10 aufgezeigte Oberflächen-Fouling verdichtet sich mit fortlaufender Filtrationszeit kontinuierlich und kann z.B. durch eine turbulente Überströmung mit dem Feed oder durch regelmäßiges Reinigen der Membran minimiert werden. Das Oberflächen-Fouling ist des Weiteren größtenteils reversibel, sodass durch Rückspülen (*Backflushing*) oder Reinigen (chemisch, enzymatisch) der Membran diese Art des Membran-Fouling fast komplett beseitigt werden kann. Das interne Membran-Fouling entsteht indessen durch die Penetration und das Verstopfen der Poren durch die Komponenten des Filtrationsmediums und ist irreversibel. Dieser Fall des Membran-Fouling kann nur dann erfolgen, wenn der Partikeldurchmesser ( $d$ ) kleiner oder gleich groß als der Porendurchmesser ( $d_p$ ) ist. Falls der Partikeldurchmesser hingegen größer als der Porendurchmesser ist, kommt es zu einer Ablagerung der Teilchen auf der Membranoberfläche.<sup>[59]</sup> Abb. 2.11 illustriert diese unterschiedlichen Fouling-Arten.

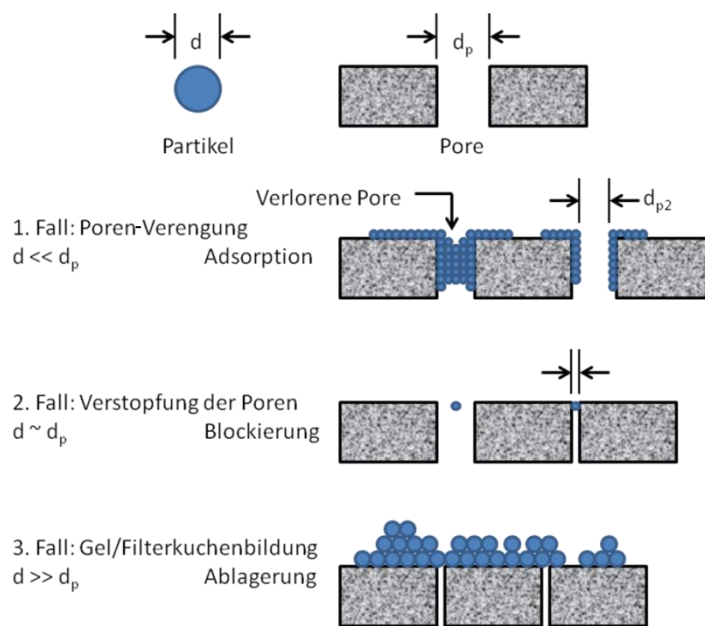


Abb. 2.11: Einfluss des Partikeldurchmessers auf das Membran-Fouling.<sup>[59,60]</sup>

1. Fall: Poren-Verengung. Sind Partikel des Filtrationsmediums klein genug, um die Poren einer Membran zu penetrieren, erfolgt dort Adsorption dieser Teilchen aufgrund von attraktiven Wechselwirkungen mit dem Membranmaterial. Die Adsorption kann dabei so stark werden, dass die komplette Pore von innen verschlossen wird.

2. Fall: Verstopfung der Poren. Voraussetzung für diese Art des Membran-Fouling ist der gleiche Partikel- und Porendurchmesser, sodass eine Pore während einer Filtration durch ein einziges Molekül verstopft werden kann. Bei einer Ultrafiltration von BSA ( $M = 69$  kDa) durch eine Membran mit einem *Cut-Off* von 50 kDa oder bei einer Filtration von Myoglobin ( $M = 17$  kDa) durch eine Membran mit einem *Cut-Off* von 10 kDa kann dieser Fall eintreten.

3. Fall: Gel/Filterkuchenbildung. Deponierte Partikel auf der Membranoberfläche können Schicht für Schicht anwachsen, sodass eine Filterkuchenbildung eintritt. Voraussetzung für dieses Membran-Fouling ist ein größerer Partikeldurchmesser als der Porendurchmesser. Dieser Fall kann bei einer Filtration von BSA durch eine Membran mit einem *Cut-Off* von 10 kDa in Erscheinung treten, da die BSA-Moleküle zu groß sind, um in die Porenstruktur der Membran eindringen zu können.

Das in Kap. 2.1.5 bereits beschriebene Widerstandsmodell kann nun um die auftretenden *Fouling*-Effekte erweitert werden. Für eine bessere Veranschaulichung fungiert die Abb. 2.12.

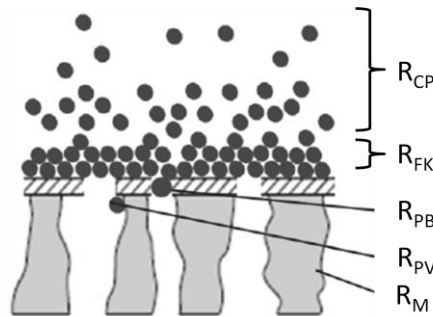


Abb. 2.12: Erweitertes Widerstandsmodell bestehend aus Membran und Membran-*Fouling*.  
CP: Konzentrationspolarisation; FK: Filterkuchen; PB: Porenblockade; PV: Porenverengung; M: Membran.

Der Gesamtwiderstand einer solchen gefaulten Membran wie in Abb. 2.12 dargestellt ergibt sich analog zu Gl. (2.12) zu:

$$R_G = R_M + R_{PV} + R_{PB} + R_{FK} + R_{CP} \quad (2.21)$$

Die *Fouling*-Beständigkeit einer Membran kann dabei experimentell durch Messung der hydraulischen Wasserpermeabilität vor und nach dem *Fouling* ermittelt werden. Dazu wird Gl. (2.22) verwendet.

$$R_f = 1 - \left( \frac{L_{p_{vor}} - L_{p_{nach}}}{L_{p_{vor}}} \right) \quad (2.22)$$

$L_{p_{vor}}$ : Wasserpermeabilität vor dem *Fouling*-Experiment

$L_{p_{nach}}$ : Wasserpermeabilität nach dem *Fouling*-Experiment

Entsprechend Gl. (2.22) erhält man als Ergebnis eine Dezimalzahl, wobei 1 = 100% *Fouling*-Beständigkeit entspricht.

## 2.3 Membranoberflächenmodifizierung

### 2.3.1 Anforderungen für *Fouling* resistente Oberflächen

Da die unter Kap. 2.2.5 und 2.2.6 beschriebenen Effekte der Konzentrationspolarisation und des Membran-*Fouling*s den transmembranen Fluss/ Druck, die Selektivität und die Lebensdauer einer Membran stark beeinflussen und somit auch zu einer verminderten wirtschaftlichen Leistung führen, gibt es eine Vielzahl an Bestrebungen, diese Effekte zu eliminieren oder zumindest zu reduzieren. Eine Möglichkeit, um dieses Ziel zu erreichen, basiert auf der chemischen Oberflächenmodifikation der Membran, um das *Fouling* für eine gewählte Trennoperation so gering wie möglich zu halten.

Die Wechselwirkungen zwischen Proteinen und Oberflächen sind Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Forschung, um die auftretenden Mechanismen der Proteinadsorption zu entschlüsseln.<sup>[61]</sup> Bedingt durch die Tatsache, dass viele Proteine eine Konformationsänderung bei der Ablagerung an einer Oberfläche durchlaufen ist es sehr schwierig die vorherrschenden Prozesse zu analysieren und zu verstehen. Dies hat zur Folge, dass die auftretenden Mechanismen heutzutage immer noch nicht vollständig aufgeklärt sind.<sup>[62]</sup> Im Zuge der Forschung konnten jedoch Anforderungen an eine Anti-*Fouling* Oberfläche identifiziert werden. So sollte eine gute Anti-*Fouling* Oberfläche über folgende Merkmale verfügen:<sup>[63]</sup>

- hydrophil und polar
- netto Elektroneutral
- Wasserstoffbrückenbindungsakzeptoren
- kein Wasserstoffbrückenbindungsdonatoren

Das bisher meist studierte und verwendete Polymer zur Generierung von Anti-*Fouling* Oberflächen ist Polyethylenglykol,<sup>[64–68]</sup> welches ein ladungsneutrales Polymer ist und mit Hilfe von Wasserstoffbrückenbindungen mit den umgebenden Wassermolekülen wechselwirken kann. Durch diesen Prozess wird eine energetische Barriere in Bezug auf die Adsorption von Biomolekülen an der Oberfläche aufgebaut.<sup>[69]</sup> Der Grund für die gute *Fouling*-Beständigkeit von PEG beschichteten Oberflächen gegen Proteine liegt in ihren

kosmotropen Eigenschaften begründet, da kosmotrope Substanzen durch ihren hohen Hydratationsgrad die native Proteinstruktur stabilisieren.<sup>[70]</sup> Dabei spielt die Struktur der umgebenden Wassermoleküle eine entscheidende Rolle.<sup>[63]</sup> In der Nähe von hydrophilen und kosmotropen Oberflächen ist die „Wasserstruktur“ dem der Bulkphase identisch, wodurch es zu repulsiven Kräften zwischen der Oberfläche und in der Bulkphase gelösten Proteinen kommt.<sup>[71]</sup>

In den letzten Jahren etablierten sich jedoch vermehrt zwitterionische Verbindungen wie beispielsweise *poly*-Sulfobetainmethacrylat oder *poly*-Carboxybetainmethacrylat<sup>[72,73]</sup> sowie gemischte anionische und kationische selbst-organisierte Monoschichten mit gleicher Valenz<sup>[74,75]</sup> zur Generierung von *Anti-Fouling* Oberflächen. Die guten *Anti-Fouling* Eigenschaften resultieren auch bei diesen Verbindungen durch den hohen Hydratationsgrad der Moleküle, sodass die „Wasserstruktur“ einer Nanometer großen Modifizierungsschicht bestehend aus zwitterionischen Verbindungen der der Bulkphase identisch ist, wodurch es zu repulsiven Kräften zwischen der Oberfläche und in der Bulkphase gelösten Proteinen kommt.<sup>[76]</sup>

Der Vorteil solcher Verbindungen gegenüber PEG-Beschichtungen bei gleichzeitig vergleichbaren *Anti-Fouling* Eigenschaften ist ihre Unempfindlichkeit gegenüber einer Hydrolysereaktion wie sie vor allem bei *in vivo* Anwendungen durch Alkoholdehydrogenasen<sup>[77–79]</sup> verursacht werden kann.

### 2.3.2 Membranmodifizierung durch UV-photoinitiertes *grafting*

*Grafting* beinhaltet die Anlagerung von kleinen Molekülen bzw. häufiger von Polymeren an der Membranoberfläche. Dabei unterscheidet man zwischen *grafting-to* und *grafting-from*. *Grafting-to* erfolgt durch die Bindung von Polymeren an der Oberfläche mit Hilfe von funktionalen Ankergruppen,<sup>[80]</sup> während die Polymerketten beim *grafting-from* Prozess ausgehend von der Membranoberfläche gebildet werden bzw. ausgehend von der Membranoberfläche wachsen. Für die Initiierung des *grafting-from* ist es nötig, die Membranoberfläche chemisch zu aktivieren, indem Radikale erzeugt werden. Dies kann u.a. mit Hilfe von einer Plasmabehandlung, hoch energetischer Strahlung ( $\gamma$ -Strahlung,

Elektronenstrahl), Reaktionen mit Ozon, Redox-Initiierung oder mit Hilfe von UV-Strahlung erfolgen. Letztgenannte Methode findet in der Membranforschung basierend auf der simplen Durchführung eine häufige Anwendung und wurde auch in der vorliegenden Arbeit verwendet. Bedingung für die UV-initiierte Pfropfung vom Polymeren an der Membranoberfläche ist jedoch das Vorhandensein einer C-C-Doppelbindung der verwendeten Monomere. Die Abb. 2.13 veranschaulicht dabei den wahrscheinlich ablaufenden Mechanismus bei dem *grafting* von AMPS auf einer Polyethersulfonmembran.

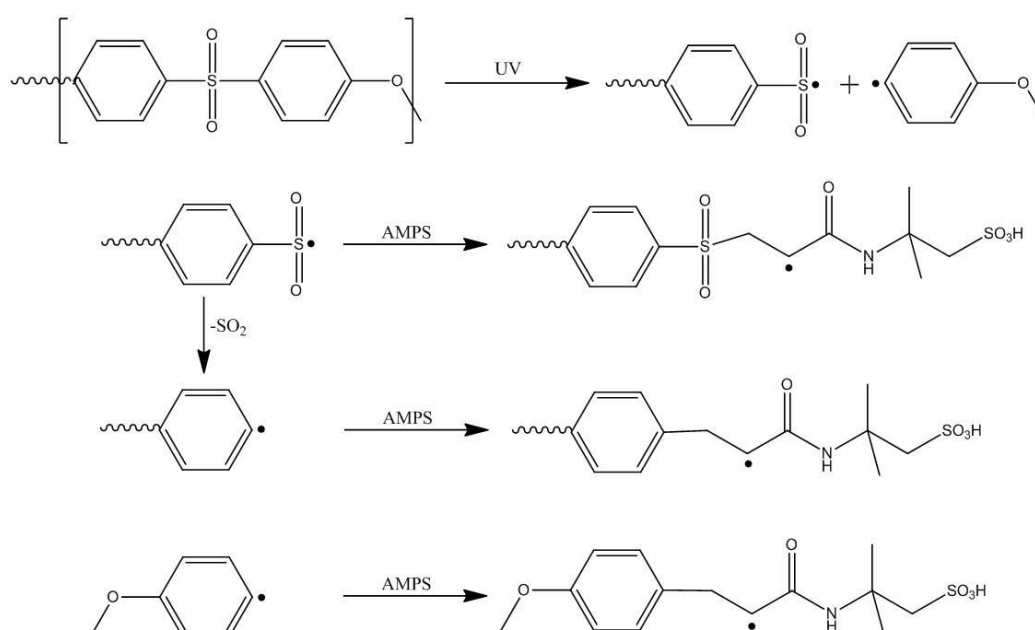


Abb. 2.13: *Grafting-from* Mechanismus an einer PES-Membran mit AMPS.

In einem ersten Schritt erfolgt eine photoinitierte homogene Spaltung der C-S-Bindung einzelner Polyethersulfonmoleküle. Die entstehenden Radikale können entweder direkt oder unter Abspaltung von  $\text{SO}_2$  mit dem Acrylamidsystem des Monomers reagieren, wodurch sich ein neues Radikal am angegriffenen Molekül bildet. Dieses Radikal kann anschließend mit einem weiteren Monomer reagieren, wobei es zur erneuten Bildung eines Radikals kommt. Durch die Wiederholung dieser Reaktion können weitere Monomere an eine bereits gepfropfte Kette angelagert werden, was zu einem Wachstum der Kette führt. Aufgrund von relativ häufig auftretenden Kettenabbruchreaktionen kann die Polymerisation über die Belichtungszeit der UV-Strahlung gesteuert werden. Die UV-

initiierte Polymerisation bietet neben den kostengünstigen Reaktionsbedingungen zudem den Vorteil, dass die Anregungswellenlänge gezielt ausgewählt werden kann und so unerwünschte Nebenreaktionen vermindert werden. Dadurch ist es beispielsweise möglich, mehrere übereinander gelagerte Polymerschichten durch *UV-grafting* aufzubauen. So kann mit Hilfe eines Photoinitiator (z.B. *p*-Hydroxybenzophenon) eine weitere Polymerschicht (z.B. ein zwitterionisches Monomer, *p*SPP) an bereits an der Membranoberfläche *gegraftete* Polymere gepfropft werden. Ein Beispiel dafür ist in der Abb. 2.14 dargestellt.

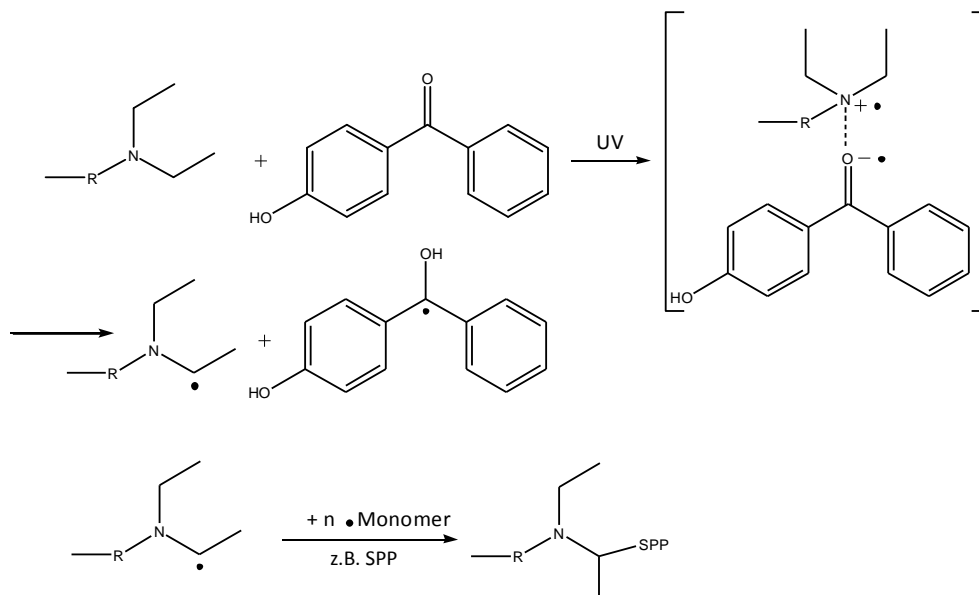


Abb. 2.14: *UV-grafting* von *p*SPP an einer bereits mit *t*-Amingruppen modifizierten Membranoberfläche.<sup>[81]</sup>

Eine Membran, welche bereits durch *UV-grafting tert.* Amingruppen an der Membranoberfläche trägt kann durch die richtige Wahl der Wellenlänge der UV-Strahlung und des Photoinitiator mehrerer übereinander gelagerte verschiedene Polymerschichten ausbilden, da der Photoinitiator und nicht das Membranmaterial selbst angeregt wird.

In der Literatur kann ein breites Spektrum von verschiedensten Membranoberflächenmodifizierungen auf PES oder PSf Membranen gefunden werden. So generierte BELFORT *et.al.* Low-Fouling-Hydrogel-Kompositmembranen unter der Verwendung von z.B. 2-Hydroxyethyl-methacrylat, Acrylsäure oder *N*-Vinyl-2-Pyrrolidon.<sup>[82–86]</sup> ULBRICHT *et.al.* synthetisierte Low-Fouling-Hydrogel-Kompositmembranen

durch die Pfropfung von Acrylsäure, Polyethylenglycolmethacrylat verschiedenen Acrylaten mit Carboxyl-, Sulfopropyl-, oder Dimethylaminopropyl-seitengruppen sowie von zwitterionischen Verbindungen (*N*-(3-Sulfopropyl)-*N*-methacroyloxyethyl-*N,N*-dimethyl-ammoniumbetain) auf PES, PSf oder Polyacrylnitril Membranen.<sup>[64,66–68,87–90]</sup>

Darüber hinaus ist es mit entsprechenden Monomeren möglich, stimuli-responsive Kompositmembranen durch UV-induziertes *grafting* zu erzeugen. HIMSTEDT *et. al.* modifizierten Polypiperazinamid-PSf-Nanofiltrationskompositmembranen mit Acrylsäure, um eine pH responsive NF-Membran zur Auftrennung von Zuckermischungen zu erhalten.<sup>[91]</sup> PENG *et. al.* verwendeten *p*(*N*-isopropylacrylamide) (*p*NIPAAAM), um Polyethylen Mikrofiltrationsmembranen (PE-MF-Membranen) zu modifizieren. Dadurch wird eine temperaturabhängige Variation der Porengröße durch die Ausnutzung der temperaturabhängigen Quellung/Schrumpfung des *p*NIPAAAMs erreicht.<sup>[92]</sup>

Des Weiteren existieren mehrere Arbeiten zur Oberflächenmodifizierung verschiedener Membranen zur Generierung von (pH,- Temperatur-, Ionenstärke) stimuli-responsiven Kompositmembranen. Jedoch wurde dort auf eine lebende Polymerisationstechnik (*Atom Transfer Radical Polymerization* (ATRP)) zurückgegriffen, da mit dieser Methode im Vergleich zum UV-induziertem *grafting* eine noch bessere Kontrolle des *Grafting*-Resultates erzielt werden kann.<sup>[15,93,94]</sup>

### 2.3.3 Ultrafiltration durch Kombination von Größen- und Ladungsselektivität

Um die Selektivität bei einer Ultrafiltration vor allem von Biomolekülen weiter zu steigern, bedient man sich einer Kombination von Größen- und Ladungsselektivität. Das bedeutet, dass die Ultrafiltration mit Membranen erfolgt, welche über positiv oder negativ geladene dissoziierte funktionelle Gruppen an der Membranoberfläche oder innerhalb der gesamten Membranmatrix verfügen. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, die Selektivität einer solchen geladenen UF-Membran über den pH-Wert des Filtrationsmediums sowie der Ionenstärke zu steuern. Dabei können prinzipiell sowohl rein positive bzw. rein negative, als auch amphotere Membranmodifizierungen benutzt werden.



Die Abb. 2.15 zeigt dabei schematisch die möglichen Kombinationen von Polyelektrolyten auf.

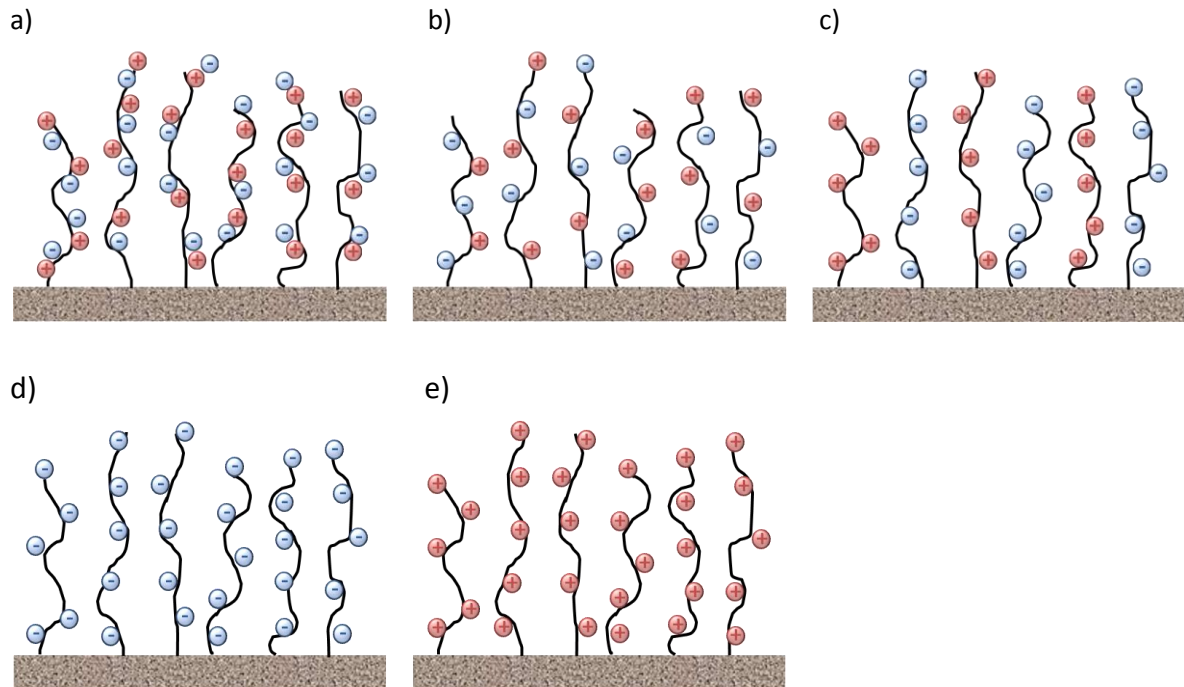


Abb. 2.15: Schematische Übersicht der möglichen Pfropfungskombinationen von Polyelektrolyten; a) *poly*-zwitterionisch; b) *poly*-ampholytisch; c) gemischt *poly*-kationisch und *poly*-anionisch; d) *poly*-anionisch; e) *poly*-kationisch.<sup>[21]</sup>

Das Quellverhalten solcher gepfropfter Polyelektrolytschichten in Kontakt mit einem wässrigen Milieu kann durch eine Variation der Ionenstärke sowie des pH-Wertes beeinflusst werden. So tritt bei rein *poly*-anionischen bzw. rein *poly*-kationischen Schichten der sogenannte Polyelektrolyteffekt auf, wenn z.B. die Ionenstärke durch Salzzugabe erhöht wird. Dieser Effekt führt zu einem kollabieren der Polyelektrolytschicht, dargestellt in Abb. 2.16.

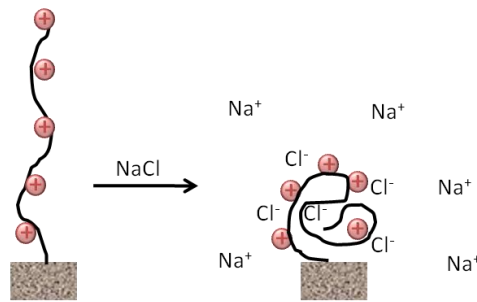


Abb. 2.16: Schematische Darstellung des Polyelektrolyteffekts.<sup>[95]</sup>

Die Zugabe eines Salzes, beispielsweise Natriumchlorid, führt zu einem Debye-Hückel Abschirmeffekt, wodurch die Polymerkette eine Konformationsänderung hin zu einer kleineren, entropisch günstigeren Konformation vollzieht. Demgegenüber tritt bei *poly*-zwitterionischen und *poly*-ampholytischen Schichten der anti-Polyelektrolyteffekt auf, wenn eine Erhöhung der Ionenstärke erfolgt.<sup>[95]</sup>

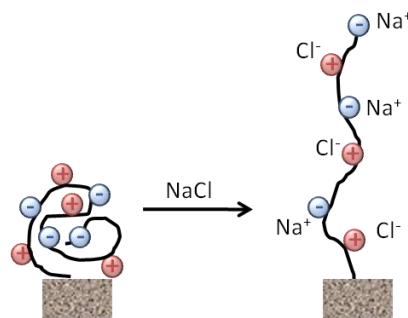


Abb.2.17: Schematische Darstellung des anti-Polyelektrolyteffekts.<sup>[95]</sup>

Bei einer vorhandenen Ladungsneutralität ist die Konformation des (Co)polymers durch attraktive elektrostatische- und Dipol- Wechselwirkungen bestimmt. Dies führt zu einer kollabierten, geknäulten Konformation. In Folge einer Erhöhung der Ionenstärke werden die attraktiven Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Ladungsträgern an den Polymerketten durch die Anlagerung der jeweiligen Gegenionen aufgebrochen, sodass eine Konformationsänderung („Streckung“) zur Reduktion der Raumladungsdichte erfolgt.<sup>[95,96]</sup> Das Einbringen von Wasser in die Hydrogelstruktur durch die Hydrathülle der solvatisierten Ionen trägt ebenfalls zu einer stärkeren Quellung bei. Diese Effekte können zusätzlich bei der Ultrafiltration durch Kombination von Größen- und Ladungsselektivität ausgenutzt werden.

VAN REIS *et.al.* verwendeten eine PES 100 kDa Membran mit Sulfonsäuregruppen an der Membranoberfläche, um eine Mischung aus Albumin (*Bovine Serum Albumin*, BSA) und einem Antigen bindenden Fragment (Fab) eines rekombinierten DNS Antikörpers voneinander zu trennen.<sup>[19]</sup> Der Siebkoeffizient dieser Membran für BSA betrug bei einem pH-Wert von 8,4 nur 0,004, was einem fast vollständigen Rückhalt von BSA entspricht. Gleichzeitig betrug der Siebkoeffizient für Fab nur 0,8. Wenn der pH-Wert der Feedlösung jedoch pH = 5 betrug kehrten sich die Siebkoeffizienten um. Der Siebkoeffizient für BSA besaß dann einen Wert von 0,7 wohingegen Fab einen Wert von 0,006 annahm.

RUANJAIKAEN *et.al.* verwendeten ebenfalls Sulfonsäuregruppen zur Modifizierung von Membranen aus regenerierter Cellulose mit einem *Cut-Off* 300 kDa, um PEGyliertes  $\alpha$ -Lactalbumin nach dem PEGylierungsgrad aufzutrennen.<sup>[22]</sup> Dabei zeigte sich eine starke Abhängigkeit der Selektivität der Membran bei der Trennung von einfach und zweifach PEGyliertem  $\alpha$ -Lactalbumin bei der Variation der Ionenstärke. Bei einer niedrigen Ionenstärke von 0,4 mM resultierte eine Selektivität = 150 bei einem pH-Wert von 5, wohingegen sich die Selektivität bei demselben pH-Wert und einer Ionenstärke von 200 mM auf 3 reduzierte.

ROHANI *et.al.* modifizierten regenerierte Cellulose 100 kDa Membranen mit verschiedenen Aminmonomeren (2-Aminoethyltrimethylammoniumchlorid; Penta-ethylenhexamin; 1,10-Diaminodekan u.v.m.) um den Transport von positiv geladenem Cytochrom C in Abhängigkeit der Ladungsdichte und der Ionenstärke zu untersuchen.<sup>[24]</sup> So reduzierte sich die Durchlässigkeit der Membran für Cytochrom C um den Faktor 100, wenn die Ladungsdichte um den Faktor 35 erhöht wurde.

Zur Aufreinigung von *E. coli* Zellproteinen verwendete LEBRETON *et.al.* ebenfalls regenerierte Cellulose 100 kDa Membranen, modifiziert mit Propyltrimethylammoniumbromid.<sup>[97]</sup> Durch die Verwendung einer solchen positiv geladenen Membran konnte eine Aufkonzentrierung um den Faktor 10 sowie eine Steigerung der Ausbeute um 12 % bezogen auf einen herkömmlichen Chromatographieprozess zur Aufreinigung von einer Zellproteinen-Lösung (pH 5,5) erzielt werden.

KUMAR und ULBRICHT verwendeten selbst produzierte positiv geladene Hybrid- membranen bestehend aus aminiertem *poly*-(Arylenethersulfon) (APAES) und carboxylierten Multiwand-Kohlenstoffnanoröhren (MWCNT-COOH)<sup>[98]</sup> zur Ultrafiltration von Lysozym. Dabei zeigte sich eine Abhängigkeit der Proteindurchlässigkeit vom pH-Wert des Filtrationsmediums. Bei einem pH-Wert von 5 sind sowohl die Membran als auch das Lysozym netto positiv geladen (IEP Lysozym = 11), wodurch eine geringe Durchlässigkeit von etwa 0,1 (entspricht 90 % Rückhalt) resultiert. Bei der Einstellung eines pH-Wertes von 11 hingegen existieren keine repulsive elektrostatische Wechselwirkungen zwischen Membran und Protein, wodurch sich die Durchlässigkeit auf ca. 0,75 (entspricht 25 % Rückhalt) erhöht.

Es bleibt anzumerken, dass bisher keine Beispiele in der Literatur existieren, bei denen amphotere oder zwitterionische Kompositmembranen zur Proteinultrafiltration eingesetzt werden. Es existieren jedoch Arbeiten, die pH-Wert abhängige Proteinadsorption an solchen Membranen beschreiben.

Matsumoto *et.al.*<sup>[21]</sup> gebrauchten unterschiedlich substituierte *poly*-PEG Derivate (PEG-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>; PEG-COO<sup>-</sup>; PEG-Cystein) um verschiedene Polyelektrolytstrukturen (Beispiele a, c, d und e entsprechend Abb. 2.15) auf PE-UF Membranen zu pfpfen. Mit diesen verschiedenen Kompositmembranen wurde die pH-Wert abhängige Adsorption von Fluorescein markiertem BSA untersucht. Bei der Verwendung von zwitterionischen PEG-Cystein PE-Kompositmembranen betrug die Adsorption von BSA bei pH 3,3 ca.  $0,3 \cdot 10^{-5}$  g/g Membran. Wurde der pH-Wert auf 4,2 erhöht, stieg die Adsorption auf  $19 \cdot 10^{-5}$  g/g Membran an. Bei einer weiteren Erhöhung des pH-Wertes auf pH 7,2 und 10,2 reduzierte sich die Adsorption wiederum auf ca. 0,2 bzw.  $2,5 \cdot 10^{-5}$  g/g Membran. Als Ursache für den starken Anstieg bei pH 4,2 konnte der IEP von BSA ausgemacht werden, welcher mit 4,8 in der Nähe des gewählten pH-Wertes von 4,2 liegt und somit keine starke Nettoladung bei dem Protein vorliegt. Unterhalb und oberhalb von pH 4,2 dominieren repulsive elektrostatische Membran-Protein Wechselwirkungen, da sowohl das Protein als auch die Kompositmembran entweder netto positiv (unterhalb pH 4,2) oder netto negativ (oberhalb pH 4,2) geladen sind. Wurde hingegen eine Membran mit gemischt

*poly*-anionisch und *poly*-kationischen Polymerketten (entsprechend Beispiel c in Abb. 2.15) verwendet, zeigte sich bei Ausnahme von pH 4,2 ein vergleichbares Adsorptionsverhalten von BSA. Der Grund für dieses Verhalten beruht auf der unterschiedlichen Konformation der *poly*-anionisch bzw. *poly*-kationischen Polymerketten. Bei pH 3,3 sind die *poly*-kationischen Polymerketten entsprechend dem Polyelektrolyteffekt stärker gestreckt als die *poly*-anionischen Polymerketten. Bei den pH Werten von 7,2 und 10,2 verhält es sich genau andersherum. Dementsprechend bestehen bei all diesen pH-Werten vergleichbare, attraktive Membran-Protein Wechselwirkungen, welche zu einem vergleichbaren Adsorptionsverhalten von BSA führen.

ZHAO *et.al.*<sup>[99]</sup> verwendeten amphotere *N,O*-Carboxymethyl-Chitosan-PES Kompositmembranen, um die pH-Wert abhängige Adsorption von BSA zu analysieren. Der IEP dieser verwendeten Membran war mit dem von BSA fast identisch (pH = 5 bzw. 4,8), sodass bei einem eingestellten pH-Wert von 4,8 eine Proteinadsorption von 70 µg/cm<sup>2</sup> innerhalb von 9 h beobachtet werden konnte, wohingegen bei einem pH-Wert von 8 die Proteinadsorption nur ca. 5 µg/cm<sup>2</sup> betrug. Diese reduzierte Adsorption bei pH 8 lässt sich auch in diesem Beispiel auf die repulsive Membran-Protein Wechselwirkung zurückführen.

Zu einem vergleichbaren Ergebnis kamen CHAKRABARTY und SHAHI bei der Adsorption von BSA und Lysozym an zwitterionischen Membranen,<sup>[100]</sup> hergestellt in einem Sol-Gel-Prozess aus der Reaktion von 3-(2-Aminopropyl)trimethoxysilan mit 1,4-Butansulton und anschließender Vernetzung mit Polyvinylalkohol (PVA). Auch hier zeigte sich eine minimale Proteinadsorption, wenn der pH-Wert der Lösung dem IEP des jeweiligen Proteins entsprach und erhöhte sich sobald der pH-Wert der Lösung vom IEP der Proteine abwich.

### 3. Zielsetzung und Konzept

Ziel der vorliegenden Dissertation ist die Entwicklung einer kaliumpermeablen Barrieremembran mit einer definierten polymeren Oberflächenmodifizierung, welche Bestandteil eines *in vivo* Sensors zur Erfassung der Blutkaliumkonzentration ist und einen maximalen Kaliumfluss aufweisen soll. Eine solche Membran wird benötigt, um das Sensorinnere vom äußeren Blutkreislauf abzugrenzen und somit andere Blutbestandteile (Proteine, Stoffwechselprodukte etc.) selektiv zurückzuhalten.

Die in dieser Arbeit präparierte Barrieremembran muss für diese Separationsaufgabe spezielle Anforderungen erfüllen:

- hoher Kaliumfluss
- möglichst geringe Membrandicke (um einen hohen Kaliumfluss zu gewährleisten)
- Biokompatibilität der Membran
- Sterilisationsbeständigkeit bei Autoklavierung und Ethylenoxid (EO) Sterilisation
- hohe Kaliumselektivität
- Rückhalt anderer Blutbestandteile (Proteine, Stoffwechselprodukte etc.)
- hohe Anti-Fouling Eigenschaften
- Langzeitstabilität

In lebenden Organismen erfolgt der transzelluläre Kaliumtransport mit Hilfe von Kaliumkanälen. Diese bestehen aus transmembranen Proteinen, welche einen passiven Kaliumtransport durch Diffusion ermöglichen und eine extrem große Kaliumselektivität besitzen. Nach dem heutigen Stand der Technik ist die Herstellung artifizieller polymerer Kompositmembranen mit solchen transmembranen Proteinen jedoch nicht möglich, wenngleich auch eine solche Membran die ideale Barrieremembran zur Anwendung in dem beschriebenen Sensor darstellt.

Des Weiteren sind klassische Kationenaustauschermembranen (KAM) ebenfalls nicht geeignet um in dem *in vivo Sensor* Anwendung zu finden. Solche Membranen besitzen zwar eine hohe Selektivität in Bezug auf Kationen und können z.B. bei dem Einbau von Kronenethern in die Membranmatrix prinzipiell zwischen Natrium- und Kalium-Kationen separieren,<sup>[101]</sup> jedoch erfolgt der Transport von Kationen nur mit Hilfe einer externen Triebkraft (Potentialdifferenz), wodurch keine physiologische Schwankung der Blutkaliumkonzentration erfasst werden kann.

Kronenether und deren Derivate<sup>[102]</sup> sowie Homopolymere welche Kationen als Templat während der Synthese beinhalten<sup>[103]</sup>, werden prinzipiell genutzt um Ionenselektive



Membranen bzw. Polymerfilme herzustellen. Jedoch konnten bislang keine adäquaten Selektivitäten ( $S(K^+/Na^+) \sim 1,4$  in Lit. 103) und Ionenflüsse (10 Tage für den Transport von 60 mM  $K^+$  bei einem Gradienten von 100 mM) realisiert werden, wobei die in der Literatur beschriebenen Membranen zusätzlich über keine ausgeprägten anti-Fouling Eigenschaften verfügen.

Bedingt durch diese Tatsachen wurde zur Herstellung einer geeigneten kaliumpermeablen Barrieremembran für den *in vivo* Sensor auf eine poröse Membran zurückgegriffen um einen adäquaten Ionenfluss zu generieren, was jedoch gleichzeitig mit einer verringerten Selektivität der Membran einhergeht. Ferner basiert das allgemeine Konzept dieser Arbeit auf einer UV-induzierten Oberflächenmodifizierung um entsprechende funktionale Polymere mit guten anti-Fouling Eigenschaften auf der Membranoberfläche zu pfpfen. Die Abb. 3.1 veranschaulicht dabei das allgemeine Konzept der vorliegen Dissertation.

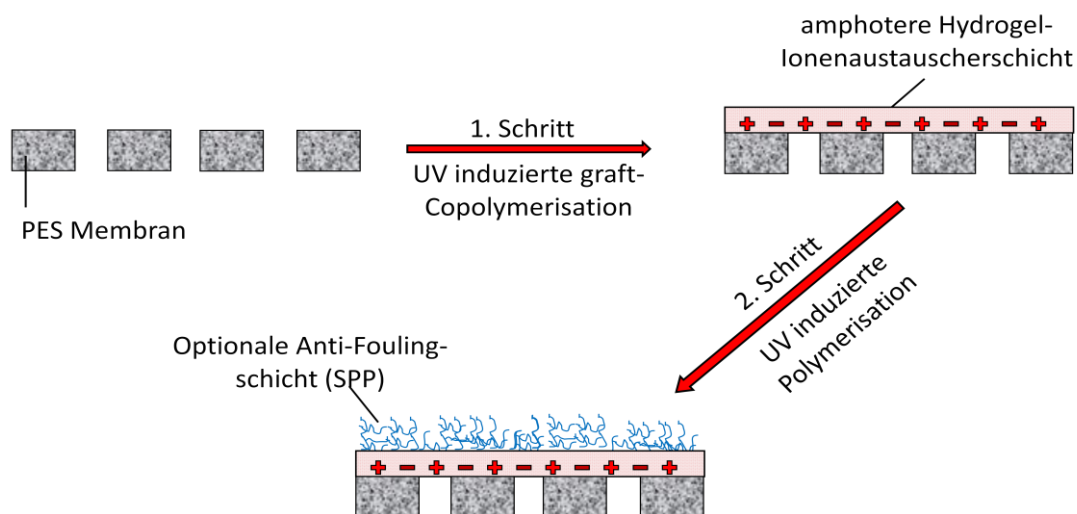


Abb. 3.1: Allgemeines Konzept zur Herstellung einer kaliumpermeablen Barrieremembran.

Das Konzept dieser Arbeit basiert auf der schrittweisen Oberflächenfunktionalisierung einer dünnen, selbstproduzierten porösen 5 kDa PES UF Membran (Schichtdicke = 45  $\mu\text{m}$ ), um die oben beschriebenen Vorgaben bzw. Ziele umsetzen zu können. Polyethersulfon wurde aufgrund der sehr hohen Glasübergangstemperatur von 225  $^{\circ}\text{C}$  und der damit verbunden guten Autoklavierbarkeit (121  $^{\circ}\text{C}$ , 3 bar) und Unempfindlichkeit bei [42]

Ethylenoxid Sterilisation als Polymermembranmaterial ausgewählt. Darüber hinaus ist eine photochemische Oberflächenfunktionalisierung von PES Membran einfach zu realisieren.

Die amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht besteht aus einem Copolymer von *N,N*-3-Dimethylaminopropylacrylamid (DAPAA) und 2-Acrylamido-2-methylpropan-sulfonsäure (AMPS) (*p*(DAPAA-*co*-AMPS)). Der isoelektische Punkt dieser Schicht soll dem pH-Wert des humanen Blutes entsprechen (pH 7,4), um zum einen die *Fouling*-Beständigkeit der Kompositmembran zu erhöhen und zum anderen keinen Kaliumflussverlust aufgrund von elektrostatischer Wechselwirkung zu verursachen. Die Strukturformeln von DAPAA und AMPS sind in Abb. 3.2 dargestellt.

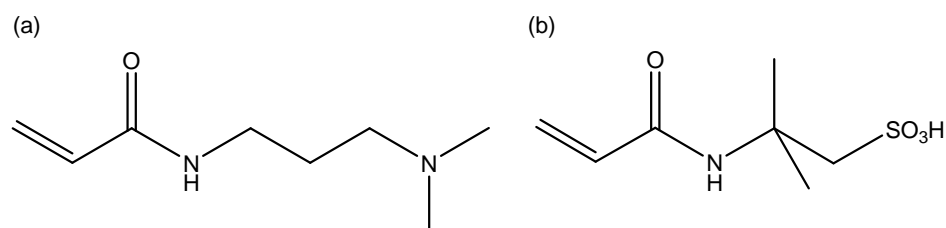


Abb. 3.2: Strukturformel von a: DMAPAA; b: AMPS

Diese Monomere wurden aufgrund ihrer Acrylamid-Gruppe sowie der jeweiligen funktionellen Gruppe (*tert.* Amin bzw. Sulfonsäure) ausgewählt. Die Acrylamid-Gruppe ist unempfindlicher gegenüber einer Hydrolyse als beispielsweise eine Acrylat- oder Methacrylat-Gruppe und kann somit nicht durch im Blutkreislauf vorhandene Alkoholdehydrogenasen oxidiert/degradiert werden. Die *tert.* Amingruppe von DMAPAA liegt bei einem pH-Wert von 7,4 protoniert vor und trägt somit eine positive Ladung. Im Gegensatz dazu ist die vorhandene Sulfonsäuregruppe von AMPS bei einem pH-Wert von 7,4 deprotoniert, wodurch eine negative Ladung resultiert. Das *gegraftete* Copolymer beider Monomere besitzt im Kontakt mit einem wässrigen Milieu somit positive und negative Festladungen, wodurch eine amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht entsteht.

Zur weiteren Steigerung der Anti-Fouling Eigenschaften basiert das vorliegende Konzept auf dem UV-grafting einer zweiten zwitterionischen Polymerschicht bestehend aus poly-3-Sulfopropyl-dimethyl-3-methacrylamidopropylammoniumhydroxid (pSPP) auf der bereits vorhandenen ersten Schicht. Damit diese zweite Oberflächenmodifizierung erfolgreich verläuft, wird ein Photoinitiator (p-Hydroxybenzophenon) verwendet und die Wellenlänge der UV-Strahlung dem Absorptionsmaximum des Photoinitiators angepasst. Abb. 3.3 beinhaltet die Strukturformeln des zwitterionischen Monomers sowie des Photoinitiators.

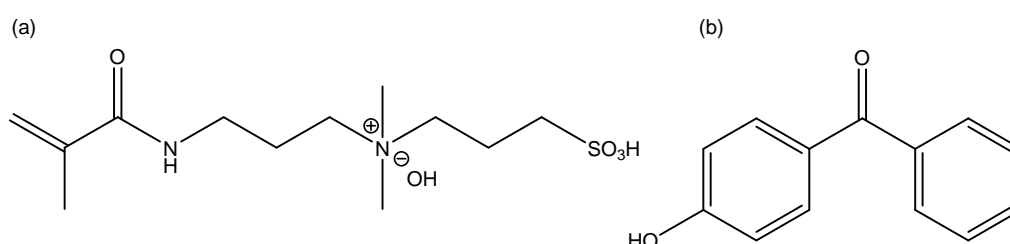


Abb. 3.3: Strukturformel von a: SPP; b: 4-Hydroxybenzophenon.

Damit die zweite Polymerschicht nur auf der Oberfläche der bereits vorhandenen ersten Schicht *gegraftet* wird (und nicht innerhalb des gesamten Volumens dieser Schicht) erfolgt dieser Schritt in einem Acetonitril-Wasser gemisch damit die amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht einen möglichst geringen Quellgrad besitzt. Dadurch soll eine möglichst scharfe Abgrenzung dieser Schichten erreicht werden.

Weiterhin basiert das Konzept dieser Arbeit auf der Entkopplung der einzelnen Arbeitsschritte (Optimierung der Membranpräparation und der Oberflächenmodifizierung), um eine Zeitersparnis zu erlangen. So wurden die Synthesebedingungen zur Generierung einer amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht mit einem IEP von 7,4 auf einer kommerziellen Sartorius PES 5 kDa Membran vorrangetrieben (Schichtdicke = 125 µm), während gleichzeitig die Prozessbedingungen zur Herstellung einer eigenen 45 µm dicken PES 5 kDa Membran optimiert wurden. Nach erfolgter Optimierung kann dann die amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht mit den richtigen Syntheseparametern direkt auf der selbst produzierten Membran hergestellt bzw. die Synthesebedingungen übertragen werden. Diese Entkopplung ist möglich, da die

Oberflächeneigenschaften einer Membran entscheidend für das *Grafting*-Resultat sind, jedoch nicht die Schichtdicke der Membran. Daher können die Synthesebedingungen für die amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht von der kommerziellen auf die selbst produzierte Membran übertragen werden, da die Porenstruktur der trennselektiven Schicht dieser beiden Membranen vergleichbar ist.

## 4. Experimenteller Teil

## 4.1 Membranherstellung

### 4.1.1 Membrangießlösung

Zur Herstellung von Membranen mit Hilfe einer Nichtlösungsmittel-Induzierten-Phasenseparation (NIPS Prozess) wurden zunächst 100 mL der Gießlösung (Zusammensetzung: siehe Tab. 4.1) hergestellt.

Tab. 4.1 Zusammensetzung der Membrangießlösung.

| Massenprozent [%] | Substanz                      |
|-------------------|-------------------------------|
| 69                | N-Methyl-2-pyrrolidon (NMP)   |
| 21                | Polyethersulfon E6020P (PES)  |
| 9                 | Aceton p.a.                   |
| 1                 | Polyvinylpyrrolidon K90 (PVP) |

Abb. 4.1 beinhaltet die Wiederholungseinheit des Basispolymers (b) und des PVP Additives (c), sowie die Strukturformel des Lösungsmittels (a).

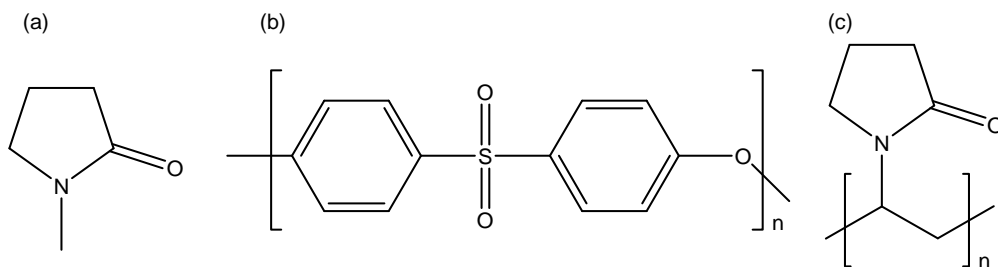


Abb. 4.1: Strukturformel bzw. Wiederholungseinheit von a: NMP; b: PES; c: PVP.

Zur Herstellung der Gießlösung wurden zuerst Polyethersulfon und Polyvinylpyrrolidon als Feststoffe sowie ein Stabührkern in einem 500 ml Erlenmeyerkolben mit Schliff eingefüllt. Vor der Zugabe der Lösungsmittel wurden die beiden Feststoffe bereits mit 200 rpm durchmischt. Anschließend wurden die Lösungsmittel gemeinsam in einem 250 ml Becherglas eingewogen und zügig in den Erlenmeyerkolben überführt. Der Kolben wurde mit einem Septum verschlossen und mit einem Kontaktthermometer ETS-D5 der Firma IKA (Staufen im Breisgau) durchstoßen. Die Lösung wurde nun mit 200 rpm bei 60 °C für 72 h auf einem RCT basic der Firma IKA gerührt. Um evtl. nicht gelöste Gelpartikel aus der Gießlösung zu entfernen wurde die gesamte Lösung im nächsten

Schritt mit Argon durch einen Tiefenfilter Seitz-T 3500 der Firma Pall Corporation (Port Washington) bei 5 bar filtriert. Jeweils 10 mL des Filtrates wurden in ein staubfreies Schnappdeckelglas überführt und für 30 min. in einem Exsikkator bei 10 mbar entgast, wobei der Exsikkator bereits nach 5 min. von der Vakuumpumpe getrennt wurde. Nach diesem letzten Schritt war die Membrangießlösung einsatzbereit.

#### **4.1.2 Membranpräparation**

Die Herstellung von dünnen PES-UF-Membranen erfolgte mit Hilfe eines Erichsen Coatmaster 509 MC bei Raumtemperatur und einer absoluten Luftfeuchtigkeit von  $20 \pm 1 \%$ . Zuerst wurde eine Glasplatte (200 x 110 x 5 mm LxBxH) mit technischem Ethanol und anschließend mit deionisiertem Wasser gereinigt. Nach dem Abtrocknen wurde die Oberfläche der Glasplatte mit Druckluft staubfrei gehalten und die Glasplatte auf die Rakelmaschine gesetzt, wo sie als Trägermaterial für die spätere Membran fungierte. Es wurde ein Erichsen Rakelmesser mit einer Spaltbreite von 90  $\mu\text{m}$  verwendet und 10 mL der Membrangießlösung vor das Rakelmesser blasenfrei ausgegossen. Nun wurde das Rakelmesser mit einem Vorschub von 5 mm/s über die Glasplatte geschoben, wodurch eine ca. 15 x 10 cm große Protomembran entstand. Anschließend wurde die Glasplatte gleichmäßig in ein Koagulationsbad mit deionisiertem Wasser getaucht und nach 15 min in ein Wasserwaschbad überführt und für 24 h gewaschen. Durch den Lösungsmittelaustausch beim Füllen der Membran in dem Wasserbad nahm die Schichtdicke der Protomembran um ca. 50 % ab, wodurch eine finale Membrandicke von  $45 \pm 1 \mu\text{m}$  resultierte. Zum Schluss wurden die Membranen zur Lagerung in 0,01 M Natriumazidlösung ( $\text{NaN}_3$ ) eingelegt.

## 4.2 Membranoberflächenfunktionalisierung

### 4.2.1 Copolymerisation von *N,N*-3-Dimethylaminopropylacrylamid (DMAPAA) und 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure (AMPS) via *grafting-from*

Für die Durchführung einer Oberflächenfunktionalisierung der Membran wurde auf einem photoinitalisiertem *grafting-from* Mechanismus zurückgegriffen. Die wässrige Monomerlösung zur Synthese der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht bestand dabei zu 53 mol% aus DMAPAA und zu 47 mol% aus AMPS. Die Gesamtmonomerkonzentration betrug 150 mM. Nach dem Ansetzen der Monomerlösung (100 mL) wurden 5 Spatelspitzen Inhibitor Remover (Sigma Aldrich) hinzugefügt und die Lösung für 30 min gerührt um den Radikalinhibitor *p*-Methoxyphenol (MEHQ) zu entfernen, welcher dem DMAPAA zugesetzt ist. Abschließend wurde die Monomerlösung durch einen Rundfilter Typ 15A (Carl Roth GmbH) filtriert, um den Inhibitor Remover wieder aus der Lösung abzufiltrieren. Zur Oberflächenmodifizierung wurde eine kreisrunde Membranprobe ( $d = 25$  mm) in einer Glaspetrischale „Soda-Lime Steriplan“ ( $d = 5,6$  cm) der Firma Duran Group (Mainz) für 5 min in 2 mL der Monomerlösung äquiliibriert und anschließend mit einer zweiten Glaspetrischale ( $d = 5,2$  cm) desselben Herstellers abgedeckt. Die Modifizierung der Membran erfolgte in einem UVA-CUBE-2000 der Firma Dr. Hönle AG, (Grafelfing), bei einer Intensität von  $5 \text{ mW/cm}^2$  und einem Wellenlängenbereich von  $315 \text{ nm} \leq \lambda \leq 400 \text{ nm}$ . Zur Einstellung der Intensität und des Wellenlängenbereiches wurde ein Glasfilter T1 (Dr. Hönle AG) und vier 3 mm dicke angeraute Grünglasplatten verwendet. Abb. 4.2 zeigt den schematischen Aufbau während der Oberflächenmodifizierung.

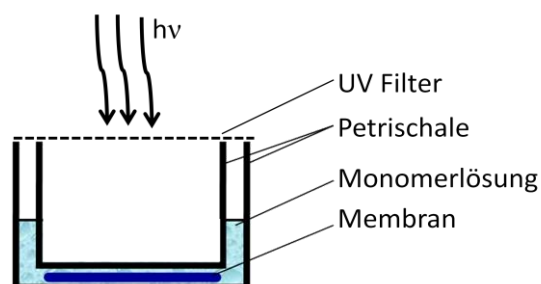


Abb. 4.2: Schematischer Aufbau zur Membranfunktionalisierung.



Die Belichtungsdauer zur Synthese der amphoteren Ionenaustauscherschicht betrug dabei 25 min. Abschließend wurde die Membran für 24 h in 250 ml deionisiertem Wasser auf einem Laborshaker Heidolph Unimax 2010 gewaschen um nicht reagierte Monomerreste zu entfernen. Zur Lagerung der modifizierten Membran wurde eine 0,01 M  $\text{NaN}_3$  Lösung verwendet.

#### **4.2.2 Polymerisation von 3-Sulfopropyldimethyl-3-methacrylamidopropylammoniumhydroxid (SPP) via *grafting-from***

Zur Synthese der zwitterionischen *Anti-Fouling* Schicht wurde eine 50/50 Vol%  $\text{H}_2\text{O}$ /Acetonitril Lösung verwendet, um 200 mM SPP sowie 10 mM des Photoinitiators 4-Hydroxybenzophenon darin zu lösen. Die Abtrennung eines Radikalinhibitors ist bei diesem Monomer jedoch nicht erforderlich. Der Aufbau und die Durchführung der zweiten Modifizierung erfolgten analog zu Punkt 4.2.1, wobei hier jedoch in einem Wellenlängenbereich von  $\lambda = 360 \pm 30 \text{ nm}$  gearbeitet wurde, um nicht erneut das Basismaterial (PES) photochemisch zu degradieren. Zur Einstellung der Intensität von  $5 \text{ mW/cm}^2$  und des nötigen Wellenlängenbereiches wurde ein Bandpassfilter U-360 (Edmund Optics) und drei 3 mm dicke angeraute Grünglasplatten verwendet. Die Belichtungsdauer betrug 15 min. Zum Schluss wurde die Membran für 24 h in 250 ml deionisiertem Wasser auf einem Laborshaker Heidolph Unimax 2010 gewaschen, um nicht reagierte Monomerreste zu entfernen. Zur Lagerung der modifizierten Membran wurde eine 0,01 M  $\text{NaN}_3$  Lösung verwendet.

#### **4.2.3. Modifizierung von Silizium-Wafer zur Ellipsometrie**

Zur Bestimmung der Schichtdicke der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht mit Hilfe der Ellipsometrie ist ein reflektierendes Substrat erforderlich, weswegen die Messung auf modifizierten Silizium-Wafern erfolgte. In einem ersten Schritt wurden dazu die Silizium-Wafern mit Hilfe von Peroxomonoschwefelsäure („Piranha-Lösung“; frisch hergestellt aus einer 1/2 Mischung von 30 %iger Wasserstoffperoxidlösung mit 96 %iger Schwefelsäure) für 30 min gereinigt und anschließend mit Milli-Q Wasser gewaschen. Im direkten Anschluss daran erfolgte eine Beschichtung der Si-Wafer mit einem PES-Film

durch *Spincoating*. Dazu wurden 50 µl einer 1 w% Lösung von PES in Dichlormethan (DCM) auf einen Si-Wafer gegeben und für 30 s bei 40 *rounds per second* (rps) beschichtet. Als letzter Schritt erfolgte die Synthese der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht auf den beschichteten Si-Wafer unter denselben Bedingungen wie unter Punkt 4.2.1 beschrieben.

## 4.3 Bulkhydrogele

### 4.3.1 Präparation von Bulkhydrogelen

Zur näheren Untersuchung des Quellverhaltens und der Maschenweite der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht bei der Membranmodifizierung wurden Bulkhydrogele für Referenzexperimente synthetisiert. Die Polymerisation erfolgte dieses Mal jedoch durch eine freie radikalische Polymerisation mit Hilfe von Ammoniumperoxodisulfat (APS) und *N,N,N',N'*-Tetramethylethyldiamin (TEMED). Um ein mechanisch stabiles Bulkhydrogel zu erhalten, wurden 2,5 w/w% bezogen auf die gesamte Monomermenge des Quervernetzers (*Crosslinker*) *N,N'*-Methylenbisacrylamid (MBAA) zugesetzt. Der gesamte Monomergehalt betrug 16 %. In Tab. 4.2 ist die Zusammensetzung eines Bulkhydrogels aufgelistet:

Tab. 4.2: Zusammensetzung von Bulkhydrogelen.

| Substanz | [mM]   | [g/L] | für 25 mL [g] |
|----------|--------|-------|---------------|
| DMApAA   | 476,25 | 74,40 | 1,86          |
| AMPS     | 422,68 | 87,60 | 2,19          |
| MBAA     | 22,50  | 3,47  | 0,09          |
| TEMED    | 120,00 | 13,94 | 0,34          |
| APS      | 30,00  | 6,85  | 0,17          |

Es wurde jeweils ein Hydrogelvolumen von 25 mL synthetisiert und zur Polymerisation für 24 h in einem verschlossenem 100 mL Schraubdeckelglas aufbewahrt. Anschließend wurden ca. 1 cm<sup>3</sup> große Stücke des Bulkhydrogels entnommen und in 200 mL Milli-Q Wasser für 7 Tage gewaschen, wobei ein täglicher Wasserwechsel erfolgte.

#### 4.3.2 Quellexperimente mit Bulkhydrogelen

Zur Untersuchung des Quellverhaltens in verschiedenen Lösungsmitteln wurden die Hydrogele nach dem Waschprozess für weitere 7 Tage in der jeweiligen Lösung gelagert, wobei auch hier ein Wechsel des Lösungsmittels erfolgte um evtl. Verdunstungseffekte zu kompensieren. Zur Bestimmung des Quellgrades eines Hydrogels wurde das nasse gequollene Hydrogel gewogen, für 24 h bei 40 °C in einem Vakuumtrockenschrank getrocknet und abschließend erneut gewogen. Der Quellgrad<sup>[104]</sup> berechnet sich nach der Gl. (4.1):

$$QG = \frac{m_{\text{nass}} - m_{\text{trocken}}}{m_{\text{trocken}}} \quad (4.1)$$

QG: Quellgrad [-]  
 $m_{\text{nass}}$ : Masse des gequollenen Hydrogels [g]  
 $m_{\text{trocken}}$ : Masse des getrockneten Hydrogels [g]

Mit Hilfe des Quellgrades und der molekulare Zusammensetzung des Hydrogels kann die Maschenweite berechnet werden. Dazu wurde die molare Masse zwischen zwei Vernetzungspunkten nach der Gl. (4.2) berechnet:

$$M_c = \frac{n_{\text{Monomer}}}{n_{\text{Crosslinker}}} \cdot M_{\text{Monomer}} + M_{\text{Crosslinker}} \quad (4.2)$$

$M_c$ : molare Masse zwischen zwei Vernetzungspunkten [g/mol]  
 $n_{\text{Monomer}}/n_{\text{Crosslinker}}$ : Stoffmenge des Monomers bzw. Crosslinkers [mol]  
 $M_{\text{Monomer}}/M_{\text{Crosslinker}}$ : molare Masse des Monomeres bzw. Crosslinkers [g/mol]

Die mittlere molare Masse der Monomermischung berechnet sich nach:

$$M_M = \frac{n_{\text{Monomer}}}{n_{\text{Crosslinker}} + n_{\text{Monomer}}} \cdot M_{\text{Monomer}} + \frac{n_{\text{Crosslinker}}}{n_{\text{Crosslinker}} + n_{\text{Monomer}}} \cdot M_{\text{Crosslinker}} \quad (4.3)$$

Mit Hilfe der Gl. (4.2) und (4.3) kann der Abstand zwischen zwei Vernetzungspunkten nach der Gl. (4.4) berechnet werden.

$$r = l \cdot \left( \frac{2M_c}{M_M} \right)^{\frac{1}{2}} \cdot (c_N)^{\frac{1}{2}} \quad (4.4)$$

l: Länge einer C-C Einfachbindung [nm] (0,154 nm)  
 $c_N$ : charakteristischer Parameter für Acrylgruppen ( $c_N = 14.6$ )<sup>[105]</sup>

Zum Schluss errechnet sich die Maschenweite (MW) entsprechend Gl. (4.5), wobei  $v_{2m}$  dem Kehrwert des Quellgrades entspricht.<sup>[106,107]</sup>

$$MW = \frac{r}{(v_{2m})^{\frac{1}{3}}} \quad (4.5)$$

## 4.4 Membrancharakterisierung

### 4.4.1 Direkte Membrancharakterisierung

#### 4.4.1.1 Funktionalisierungsgrad (degree of *grafting*, DG)

Zur Ermittlung des Funktionalisierungsgrades (DG) wurde eine gravimetrische Methode verwendet. Dazu wurden jeweils 6 Membranen desselben Typs vor dem Modifizieren nummeriert und einzeln für 24 h in einem Vakuumtrockenschrank bei 20 mbar und 40 °C getrocknet. Nach der Bestimmung der Massen erfolgte die Modifizierung der Membranen wie unter Punkt 4.2 beschrieben. Im Anschluss an dem Waschschrift nach der Modifizierung wurden die Membranen erneut für 24 h in einem Vakuumtrockenschrank bei 20 mbar und 40 °C getrocknet und abschließend erneut gewogen. Der Funktionalisierungsgrad kann dann entsprechend Gl. (4.6) berechnet werden.

$$DG = \frac{m_{nach} - m_{vor}}{A} \quad (4.6)$$

DG: Funktionalisierungsgrad [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ]  
 $m_{nach}/m_{vor}$ : Masse der trockenen Membran nach/vor der Modifizierung [ $\mu\text{g}$ ]  
A: Membranfläche [ $\text{cm}^2$ ]

#### 4.4.1.2 Bestimmung des effektiven Diffusionskoeffizienten

Zur Bestimmung des effektiven Diffusionskoeffizienten diverser Blutbestandteile wurden die Diffusionsexperimente immer bei 37 °C in selbstangefertigten Diffusionszellen durchgeführt. Abb. 4.3 zeigt den schematischen Aufbau während einer Diffusionsmessung.

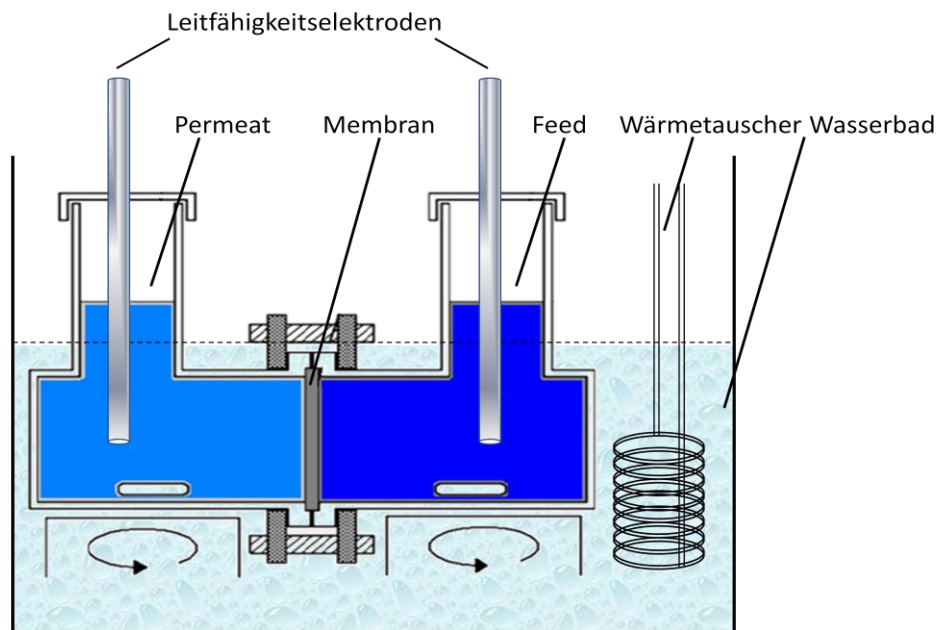


Abb. 4.3: Schematischer Aufbau einer Diffusionsmessung mit Temperierbad. <sup>[108]</sup>

Vor dem Beginn einer Diffusionsmessung wurden jeweils 100 mL des Feeds und des Permeates in einem Wasserbad auf 37 °C vortemperierte. Im nächsten Schritt wurde die zu vermessende Membran in den Membranhalter eingespannt und die Diffusionszelle zusammengebaut, indem die *Feed*- und *Permeat*-Halbzelle an den Membranhalter angeflanscht und verschraubt wurden, wobei die aktive Membranseite zum *Feed* hin ausgerichtet ist. Die Diffusionszelle wurde in das Wasserbad eingetaucht und mit einer Wasserwaage horizontal ausgerichtet. Anschließend wurden beide Halbzellen gleichzeitig mit den vortemperierten Lösungen befüllt und die Zeitmessung gestartet. Während der Messung wurden beide Kompartimente permanent mit einem Magnetrührkern durchmischt. Bei Messungen mit KCl-Lösungen wurde die Konzentrationsänderung mit Hilfe von zwei Leitfähigkeitselektroden erfasst. Dabei wurde für die *Feed*-Halbzelle ein Cyberscan 510 con der Firma Eutech Instruments (Nijkerk) und für die *Permeat*-Halbzelle

ein 856 Conductivity Modul der Firma Metrohm (Filderstadt) verwendet. Aufgrund der unterschiedlichen Bauweise der beiden Leitfähigkeitselektroden musste die Eintauchtiefe so gewählt werden, dass keine Füllstandsdifferenz und damit eine hydrostatische Druckdifferenz aufgetreten ist. Für alle weiteren verwendeten Testsubstanzen war keine Onlinemessung möglich, sodass eine Probenentnahme vorgenommen werden musste. Tab. 4.3 beinhaltet eine Übersicht der verwendeten Substanzen.

Tab. 4.3: Verwendete Substanzen, Detektionsarten und Messintervalle zur Diffusionsmessung.

| Testsubstanz            | Startkonzentration |               | Analysenmethode | Zeit | Messintervall |
|-------------------------|--------------------|---------------|-----------------|------|---------------|
|                         | Feed               | Permeat       |                 |      |               |
| $\alpha$ -D-Glukose     | 990 mg/L           | 495 mg/L      | HPLC            | 24 h | 24 h          |
| Harnstoff               | 450 mg/L           | 225 mg/L      | HPLC            | 24 h | 24 h          |
| Inulin                  | 100 mg/L           | 0 mg/L        | TOC             | 24 h | 24 h          |
| KCl                     | 10 mM              | 2 mM          | Leitfähigkeit   | 2 h  | 15 min        |
| KCl + NaCl              | 10 mM + 150 mM     | 2 mM + 120 mM | IC              | 4 h  | 2 h           |
| Kreatinin               | 14 mg/L            | 7 mg/L        | HPLC            | 24 h | 24 h          |
| Vitamin B <sub>12</sub> | 20 mg/L            | 10 mg/L       | HPLC            | 24 h | 24 h          |

Die gewählten Testsubstanzen stellen repräsentative Vertreter verschiedener Klassen von humanen Blutbestandteilen (Zucker, Stoffwechselprodukte, Elektrolyte und Vitamine) dar. Die jeweiligen Startkonzentrationen deckten dabei die humanphysiologischen Blutkonzentrationen mit Ausnahme von Vitamin B<sub>12</sub> und Inulin ab. Die Konzentration von Vitamin B<sub>12</sub> wurde aus Gründen der Detektierbarkeit um den Faktor 1000 erhöht und Inulin wurde verwendet, da es eine Testsubstanz für Dialysemembranen ist, auch wenn es nicht im menschlichen Blutkreislauf vorkommt. Nach der Ermittlung der zeitabhängigen Konzentrationsänderung in beiden Kompartimenten kann ein c/t-Diagramm erstellt (siehe Abb. 4.4) und der Substanzfluss (J) sowie der effektive Diffusionskoeffizient ( $D_{\text{eff}}$ ) ermittelt werden.

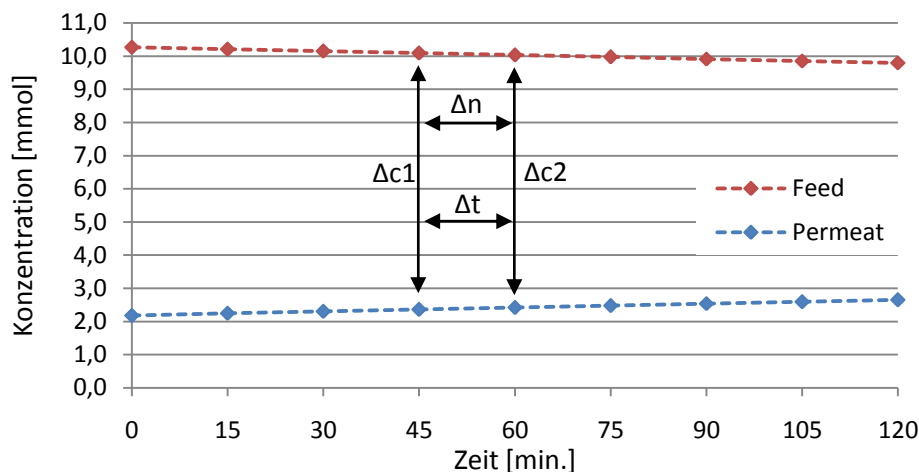


Abb. 4.4: Exemplarischer zeitlicher Verlauf der Kaliumkonzentration während einer Diffusionsmessung.

$\Delta n$ : Änderung der Stoffmenge zwischen zwei Messpunkten [mmol]

$\Delta t$ : Zeitdifferenz zwischen zwei Messpunkten [s]

$\Delta c_1$  bzw.  $\Delta c_2$ : Konzentrationsunterschied von Feed und Permeat am Messpunkt [mmol/L]

Der Stoffmengenstrom kann anhand dieser Daten mit Hilfe der Gl. (4.7) ermittelt werden:

$$J = \frac{\Delta n}{A \cdot \Delta t} \quad (4.7)$$

J: Substanzfluss [mmol/cm<sup>2</sup> s]

Der effektive Diffusionskoeffizient wiederum ermittelt sich nach Gl. (2.4) wie in Kap. 2.1.1 beschrieben.

#### 4.4.1.3 Zetapotential

Bei dem Zetapotential (ZP) handelt es sich um ein nach außen gerichtetes Potential, welches von einer mit Elektrolytlösung umströmten Oberfläche ausgeht. Anders als das reine Oberflächenpotential lässt dieses Potential realistische Aussagen über die Oberflächenladung in Relation zu seiner Umgebung zu. Die Dissoziation und Ionisierung von funktionellen Gruppen, sowie die Adsorption von Ionen an die Oberfläche werden dabei berücksichtigt. Die Ausbildung eines solchen elektrokinetischen Potentials beruht auf dem Vorhandensein einer elektrochemischen Doppelschicht. Wird eine Oberfläche, z.B. eine Membran von einer Elektrolytlösung durchströmt bzw. überströmt, bildet sich in der Nähe der Festkörperoberfläche ein dünner Grenzfilm aus. Die elektrochemische Ladungsdichte innerhalb dieser Grenzsicht unterscheidet sich dabei deutlich von der

Ladungsdichte außerhalb. Das GOUY-CHAPMAN-STERN-GRAHAME-Modell<sup>[109]</sup> gibt entsprechend Abb. 4.5 eine Erklärung für die auftretenden Ladungsunterschiede.

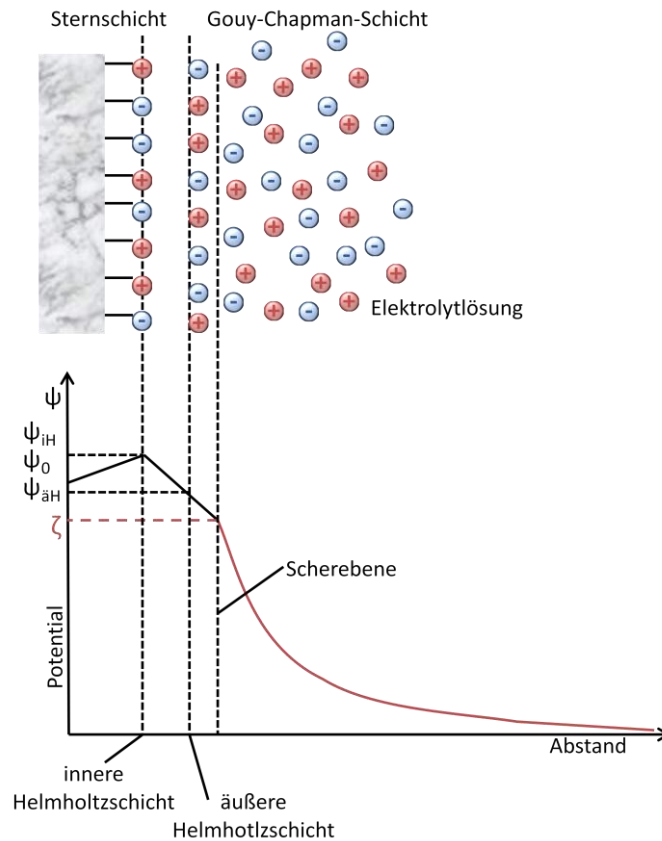


Abb. 4.5: Schematische Darstellung der Ladungsverteilung an einer mit Elektrolyt überströmten Membranoberfläche und die resultierenden Potentialverläufe.<sup>[110]</sup>

Direkt auf der Oberfläche befinden sich dissoziierte funktionelle Gruppen und adsorbierte Ionen. Diese erste, in direkter Nähe zur Grenzfläche fest/flüssig befindliche Schicht wird als innere HELMHOLTZ-Schicht bezeichnet. Angrenzend dazu befindet sich eine äußere HELMHOLTZ-Schicht, bestehend aus vollständig hydratisierten Ionen, welche sich entsprechend ihrer Ladungen komplementär zur inneren HELMHOLTZ-Schicht anlagern. Die Kombination beider HELMHOLTZ-Schichten wird als STERN-Schicht bezeichnet, welche sich dadurch auszeichnet, dass die Ladungen innerhalb dieser Schicht als netto immobilisiert betrachtet werden können. Für jedes Ion, das die STERN-Schicht verlässt, werden Gegenionen aus der Lösung nachgelagert. Dementgegen gibt es in der diffusen GOUY-CHAPMAN-Schicht zwar eine bevorzugte Orientierung der Ionen, welche allerdings keine feste innere Struktur besitzt, da die enthaltenen Ionen weniger stark mit der Oberfläche



wechselwirken. Wird nun im Zuge einer Zetapotentialmessung eine Oberfläche, z.B. in einem Kanal durch Druckausübung mit einem Elektrolyten überströmt, so wird durch die Fluidbewegung ein Teil der adsorbierten Ionen entlang der Scherebene herausgerissen. Diese Ionen stammen überwiegend aus der GOUY-CHAPMAN-Schicht. Durch das mechanische Fortreißen von Ionen entsteht ein Strömungsstrom. Durch die Anhäufung der fortgerissenen Ionen an einem Ende des Kanals wird wiederum ein elektrisches Feld erzeugt, welches bewirkt, dass ein Teil der Ionen entgegen des angelegten Druckes wieder zurück in den Kanal fließt bis ein stationärer Zustand erreicht ist. In diesem Zustand kann an den beiden Enden des Kanals ein Potential  $\Delta E$  gemessen werden. Dieses Potential fällt innerhalb der GOUY-CHAPMAN-Schicht mit steigendem Abstand zur Oberfläche exponentiell auf den nach Konvention gleich Null gesetzten Wert der strömenden Elektrolytlösung ab.<sup>[111]</sup> Das Potential, welches direkt an der Scherebene anliegt, wird als das Zetapotential  $\zeta$  definiert.<sup>[111,112]</sup> Durch Variation des angelegten Druckes, mit dem der Elektrolyt durch den Spalt gedrückt wird, können unterschiedliche Strömungspotentiale hervorgerufen werden. Nimmt man darüber hinaus noch an, dass ein laminares Strömungsprofil vorliegt und der Durchmesser des Spaltes groß ist im Vergleich zur Höhe der elektrochemischen Doppelschicht, so kann aus diesen Messwerten nach der vereinfachten HELMHOLTZ-SMOLUCHOWSKI-Gleichung das Zetapotential nach Gl. (4.8) berechnet werden.

$$\xi = \frac{\Delta E}{\Delta p} \cdot \frac{\eta \cdot \chi_L}{\epsilon_r \cdot \epsilon_0} \quad (4.8)$$

|                                  |   |              |                                   |
|----------------------------------|---|--------------|-----------------------------------|
| $\zeta$ :                        | Zetapotential [mV]                                      | $\Delta E$ : | Strömungspotential [mV]           |
| $\Delta p$ :                     | Druckdifferenz [bar]                                    | $\eta$ :     | dyn. Viskosität der Lösung [Pa s] |
| $\chi_L$ :                       | Leitfähigkeit [mS/cm]                                   |              |                                   |
| $\epsilon_r$ bzw. $\epsilon_0$ : | Dielektrizitätskonstante (Lösung bzw. Vakuum [A s/V m]) |              |                                   |

Gl. (4.8) gilt dabei jedoch exakt nur für Oberflächen mit einer niedrigen Oberflächenleitfähigkeit. Die Ionenkonzentration in der STERN-Schicht von hoch geladenen Oberflächen (wie die in dieser Arbeit hergestellten Membranen mit einer amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht) ist größer als die Ionenkonzentration in der diffusen GOUY-CHAPMAN-Schicht. Ist zusätzlich auch noch die Elektrolytkonzentration niedrig, wie es [58]

bei standardmäßigen Messungen der Fall ist, so ist der elektrische Widerstand des Elektrolyten vergleichbar zu dem der Oberfläche. Das bedeutet, dass ein Teil der entgegen des angelegten Druckes zurückfließenden Ionen auch über die Oberfläche zurückfließen. Somit wird ein geringeres Strömungspotential gemessen, was dazu führt, dass das resultierende Zetapotential zu klein ist.<sup>[110,111]</sup> Wird hingegen zur Bestimmung des Zetapotentials direkt der Strömungsstrom gemessen, so kann auf Basis des Ohm'schen Gesetzes unter Kenntnis der Dimensionen des Kanals (Länge und überströmte Fläche) auch für Oberflächen mit einer hohen Oberflächenleitfähigkeit das exakte Zetapotential erhalten werden. Dadurch ergibt sich die HELMHOLTZ-SMOLUCHOWSKI-Gleichung. zu:

$$\xi = \frac{\Delta I}{\Delta p} \cdot \frac{\eta}{\varepsilon_r \cdot \varepsilon_0} \cdot \frac{L}{A} \quad (4.9)$$

$\Delta I$ : Strömungsstrom [A]

$L$ : Länge des Kanals [cm]

$A$ : überströmte Fläche [cm<sup>2</sup>]

Die Bestimmung des Zetapotentials (ZP) und die Ermittlung des isoelektrischen Punktes (IEP) der verschiedenen Membranen wurden mit einem elektrokinetischen Analysator SurPass der Firma Anton Paar GmbH (Graz), durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde eine Überströmungsmessung durchgeführt und der resultierende Strömungsstrom gemessen. Vor der Messung wurden die zu untersuchenden Membranen in 1 mM KCl-Lösung für ca. 1 h äquilibriert. Anschließend wurden die Membranen mit Hilfe von doppelseitigem Klebeband auf die Probenhalter (10 x 20 mm) der Überströmungszelle (*adjustable gap cell*) geklebt und von überstehenden Membranresten befreit. Nach Zusammenbau der Zelle und Einbau in die Messapparatur wurde die Messung mit einem Druck von 300 mbar, einer Spaltweite von ca. 100 µm und einem Fluss von mindestens 100 mL/min durchgeführt. In der Abb. 4.6 ist der Querschnitt der verwendeten Überströmungszelle schematisch dargestellt:

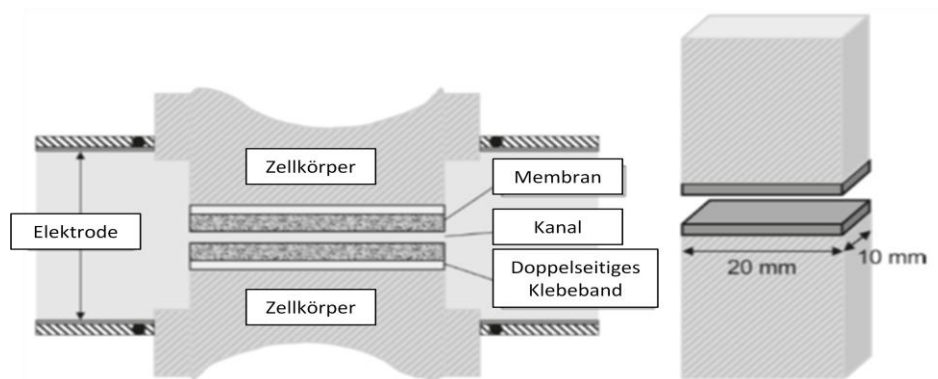


Abb. 4.6: Messaufbau der verwendeten Überströmungszelle zur Bestimmung des Zetapotentials.<sup>[113]</sup>

Um die Lage des IEPs im Verlauf der Messung möglichst genau zu bestimmen, wurde unter Verwendung von 0,1 M HCl und 0,1 M KOH von pH 10 zu pH 6 titriert, wobei das Intervall 0,1 betrug. Wurde das Zetapotential einer Probe für eine Gesamtübersicht aufgenommen, wurde von einem pH Wert 10 zu pH 3 mit einem Intervall von 0,1 titriert. Aus den hierbei aufgenommenen Werten für den Strömungsstrom und der Druckdifferenz vor und nach dem Spalt wurde unter Verwendung der Helmholtz-Smoluchowski-Gl. (4.9) das Zetapotential der Membran bei jeweiligen pH-Wert berechnet.

#### 4.4.1.4 Kontaktwinkelmessung

Um Aussagen über die Hydrophilie von unmodifizierten und modifizierten Membranen treffen zu können wurde der Kontaktwinkel der aktiven Membranseite vermessen. Alle Kontaktwinkelmessungen erfolgten dabei mit dem System OCA 25 Plus von Dataphysics GmbH (Filderstadt), wobei die Auswertung mit der Software SCA20 Version 2 durchgeführt wurde. Als Messmethode wurde die „captive bubble“ Variante verwendet, wozu eine nasse kreisrunde Probe ( $d = 25 \text{ mm}$ ) auf einen Glasprobenhalter mit der aktiven Seite nach oben aufgetragen und mit zwei Metallklemmen fixiert wurde. Anschließend wurde der Probenhalter mit der Membran nach unten in ein Wasserbad mit Stützelementen gelegt und der Kontaktwinkel vermessen.

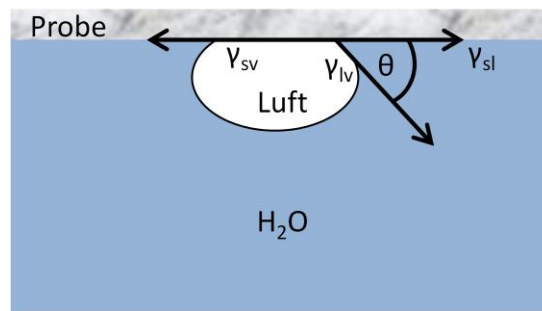


Abb. 4.7: Bestimmung des Kontaktwinkels mit der „captive bubble“ Methode.  $\gamma$  = Grenzflächenenergie zwischen sv: Probe/Luft; lv: Wasser/Luft; sl: Probe/Wasser.<sup>[9,114]</sup>

Diese Vorgehensweise hat den Vorteil, dass die Probe nicht austrocknet und somit keine trocknungsbedingten Porenbeschädigungen auftreten.<sup>[115]</sup> Die aufgebrachte Luftblase besaß bei der Messung ein Volumen von 5  $\mu\text{l}$ . Zur Auswertung der Blasenform wurde auf das Young-Laplace-Fitting zurückgegriffen. Alle in dieser Arbeit angegebenen Werte stellen Mittelwerte von mindestens zehn Messungen auf mindestens drei unabhängig voneinander präparierten Proben mit Standardabweichung dar, welche maximal 8 ° betrug.

#### 4.4.1.5 Dead-End Filtrationen

Sämtliche Filtrationsexperimente zur Bestimmung des Proteinrückhaltes, des *Cut-Offs* oder der Wasserpermeabilität wurden mit einer *Dead-End* Versuchsanordnung in einer 25 ml großen Amiconzelle® der Firma Merck Millipore (Billerica) durchgeführt. Die kreisrunden Membranen besaßen dabei einen Durchmesser von 25 mm. Abb. 4.8 zeigt den verwendeten Versuchsaufbau.

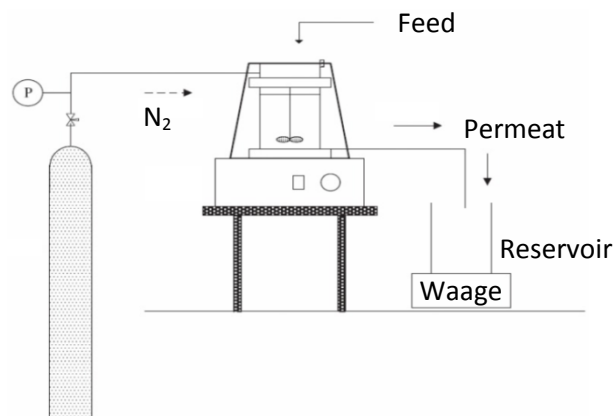


Abb. 4.8: Schematische Darstellung eines *Dead-End*-Filtrationsaufbaus.

Mit dem N<sub>2</sub> Gasstrom wurde in der Amiconzelle® ein Druck von 1 bar aufgebaut und die Lösung mit 300 rpm (0,195 m/s) gerührt. Für die Bestimmung der Wasserpermeabilität wurde durch Gravimetrie die Menge des Permeates bestimmt, welches sich innerhalb von 150 s ansammelte. Mit Hilfe der Gl. (4.10) wurde die Permeabilität der Membran berechnet.

$$L_p = \frac{m}{\rho \cdot \Delta t \cdot A \cdot \Delta p} \quad (4.10)$$

|          |  |              |                                 |
|----------|--|--------------|---------------------------------|
| $L_p$ :  | Permeabilität [L/h m <sup>2</sup> bar] | $\Delta t$ : | Messzeit [h]                    |
| $m$ :    | Masse des Permeates [kg]               | $A$ :        | Membranfläche [m <sup>2</sup> ] |
| $\rho$ : | Dichte der Lösung [kg/L]               | $\Delta p$ : | Druck [bar]                     |

#### 4.4.1.6 Foulung-Beständigkeit

Bevor das *Fouling*-Experiment durchgeführt werden konnte war es zunächst notwendig die Wasserpermeabilität der Probe zu bestimmen. Zur Ermittlung der *Fouling*-Beständigkeit ( $R_f$ -Wert) einer Membran wurde fötales Kälberserum verwendet (*fetal bovine serum*, FBS). Dazu wurde eine 25 mm kreisrunde Membran mit Hilfe eines Dichtungsringes auf die Bodenplatte eines Membranhalters fixiert. Zur besseren Veranschaulichung ist eine Skizze des Membranhalters in Abb. 4.9 dargestellt.

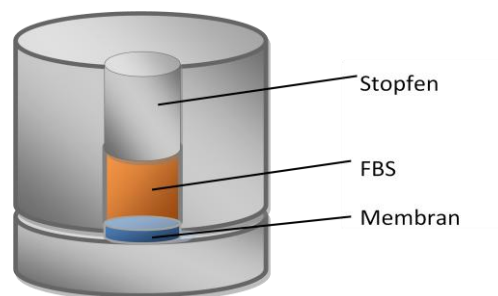


Abb. 4.9: Skizze des Membranhalters zur Durchführung von *Fouling*-Experimenten.

Bei der Fixierung der Membran musste darauf geachtet werden das nur die aktive Membranoberseite mit der FBS-Lösung in Kontakt kommt. Nach dem Einbau der Membran wurden 5 mL der FBS-Lösung in den Membranhalter eingefüllt und die gesamte Apparatur für 24 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Probe ausgebaut

und die Wasserpermeabilität erneut gemessen. Mit Hilfe der Gl. (4.11) konnte anschließend die *Fouling*-Beständigkeit berechnet werden.

$$R_f = 1 - \frac{L_{p\text{vor}} - L_{p\text{nach}}}{L_{p\text{vor}}} \quad (4.11)$$

$L_{p\text{vor}}$ : Wasserpermeabilität vor dem *Fouling*-Experiment

$L_{p\text{nach}}$ : Wasserpermeabilität nach dem *Fouling*-Experiment

#### 4.4.1.7 Größenausschlussgrenze (*Cut-Off*)

Zur Ermittlung des *Cut-Offs* einer Membran wurde eine *Dead-End*-Filtration mit verschiedenen Dextranfraktionen durchgeführt, wie sie unter Punkt 4.4.1.5 beschrieben ist. Der Druck betrug dieses Mal jedoch nur 0,1 bar und anstatt 150 s Filtrationszeit wurde eine Permearmenge von 2 mL aufgefangen. Der Dextranfeed besaß dabei folgende Zusammensetzung:

Tab. 4.4: Feedzusammensetzung zur Bestimmung des *Cut-Offs*.

| Dextranfraktion | Massenkonzentration |
|-----------------|---------------------|
| [kDa]           | [g/L]               |
| Dextran 4-6     | 0,4                 |
| Dextran 8-12    | 0,4                 |
| Dextran 15-20   | 0,2                 |

Sämtliche Dextranfraktionen wurden von der Firma Serva (Fröhlunda) bezogen und nacheinander in 0,01 M  $\text{NaN}_3$  gelöst. Die Gesamtkonzentrationen an Dextran in der Feed-Lösung betrug 1 g/L. In der folgenden Abb. 4.10 ist die Molmassenverteilung der Feed-Lösung aufgetragen.

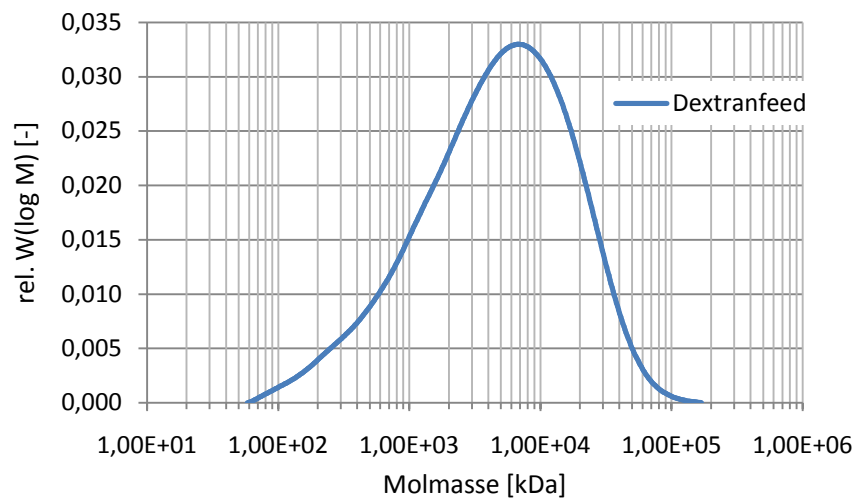


Abb. 4.10: Molmassenverteilung der Dextranlösung zur Bestimmung des *Cut-Offs*.

Zur Bestimmung der Größenausschlussgrenze wurden sowohl der *Feed*, das Permeat als auch das Retentat einer Filtration mit Hilfe einer Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) analysiert und die vorhandene Molmassenverteilung bestimmt. Als Chromatographiesäule fungierte eine Suprema 10  $\mu$ m der Firma PSS (Mainz), welche eine Länge von 600 mm und einen Durchmesser von 0,8 mm besitzt. Als Eluent wurde eine 0,01 M  $\text{NaN}_3$  Lösung verwendet und die Detektion erfolgte mit einem Refraktometer RI 71 der Firma Shodex (München).

#### 4.4.1.8 Rasterelektronenmikroskopie (REM) und Rasterkraftmikroskopie (AFM)

Die bei der Rasterelektronenmikroskopie erhaltenen Aufnahmen der Membranoberfläche und des Membranquerschnittes wurden an einem Quanta 400 FEG der Firma FEI, (Brünn, Tschechien) aufgenommen. Jede Probe wurde vor der Aufnahme über Nacht bei 40 °C getrocknet und vor der Messung mit einer ca. 8 nm dicken Schicht aus Gold/Palladium beschichtet.

Die AFM-Bilder wurden im Semikontakt-Modus mit einem Innova NanoDrive AFM Kontroller und einem Innova Rasterkraftmikroskop der Firma Veeco mit N-dotierten Silikon Cantilevern aufgenommen.

#### 4.4.2 Indirekte Membrancharakterisierung

##### 4.4.2.1 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) zur Konzentrationsbestimmung

Wie aus Tab. 4.3 ersichtlich ist, erfolgte die Detektion von  $\alpha$ -D-Glukose, Harnstoff, Kreatinin und Vitamin B<sub>12</sub> aus den Diffusionsexperimenten simultan mit Hilfe einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC). Die einzelnen Komponenten der HPLC Anlage sind in Tab. 4.5 aufgelistet:

Tab. 4.5: Typenbezeichnung der HPLC Komponenten.

| HPLC Komponente      | Typbezeichnung   | Hersteller |
|----------------------|------------------|------------|
| Gradientenpumpe      | P580 Pump        | Dionex     |
| Probennehmer         | 235 Autoinjector | Gilson     |
| Säulenofen           | TCC 100          | Dionex     |
| UV Detektor          | UVD 340U         | Dionex     |
| RI Detektor          | RI71             | Shodex     |
| Chromatographiesäule | HILIC EC125/3    | Nucleodur  |

Für die HPLC Analytik wurde ein Probenvolumen von 250  $\mu$ L aus der *Feed*- bzw. *Permeat*-Lösung entnommen und mit 250  $\mu$ L hochreinem Acetonitril (HiPerSolv) versetzt, um das RI-Signal der Probenmatrix (Wasser) zu minimieren. Anschließend wurde die Probe mit einem Septum und einer Crimpzange luftdicht verschlossen und in den Probennehmer der HPLC Anlage eingeführt. Die weiteren Arbeitsschritte erfolgten automatisiert, wobei die Proben bei 23 °C mit einem Eluentenvolumenstrom von 0,5 ml/min. auf die Chromatographiesäule aufgegeben wurden. Als Eluent für den Chromatographieprozess diente ein Gemisch aus 75 Vol% H<sub>3</sub>CCN und 25 Vol% 25 mM NH<sub>4</sub>-Ac mit einem pH Wert von 4,0, eingestellt mit Ameisensäure (98 %). Der Eluent wurde vor der Verwendung durch einen Polypropylenfilter (0,2  $\mu$ m Porendurchmesser) der Firma Pall Corporation (Port Washington) filtriert und für 15 min. im Ultraschallbad entgast.



#### 4.4.2.2 Ionenchromatographie (IC) zur Konzentrationsbestimmung

Da bei der simultanen Durchführung von Diffusionsexperimenten mit KCl und NaCl keine Konzentrationsbestimmung via Konduktometrie angewendet werden kann, wurde auf einen Ionenchromatographieprozess zurückgegriffen. Zur Analytik wurde ein 883 Basic IC plus der Firma Metrohm (Filderstadt) verwendet. Als Chromatographiesäule wurde eine Metrosep C4 100/4 Kationensäule verwendet. Der benötigte wässrige Eluent beinhaltete 1,7 mM Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ ) sowie 0,7 mM Dipicolinsäure und besaß einen pH Wert von 3. Zur Probenpräparation wurde ein Volumen von 1,5 mL aus der *Feed-* bzw. *Permeat-* Lösung entnommen und mit dem Eluenten der Ionenchromatographie auf ein Volumen von 15 mL (10x Verdünnung) aufgefüllt. Dieser Schritt ist notwendig, da die verwendete Säule in einem sauren Milieu arbeiten muss. Nach dem Einbringen der Proben in den Probengeber erfolgten sämtliche nachfolgenden Arbeitsschritte automatisiert, wobei die Probe mit einem Volumenstrom von 0,9 mL/min auf die Chromatographiesäule aufgebracht wurde.

#### 4.4.2.3 Totaler organischer Kohlenstoffanteil zur Konzentrationsbestimmung

Für die Konzentrationsbestimmung von Inulin bei den Diffusionsmessungen und der Gesamtproteinkonzentration bei den Filtrationsexperimenten wurde eine Bestimmung des totalen organischen Kohlenstoffanteiles (*total organic carbon*, TOC) an einem TOC-VCPN der Firma Shimadzu Europa GmbH (Duisburg) durchgeführt. Die Ermittlung des TOC Wertes erfolgte indirekt, indem zuerst der gesamte Kohlenstoffanteil (*total carbon*, TC) der Probe und anschließend der anorganische Kohlenstoffanteil (*inorganic carbon*, IC) bestimmt wurde. Zur TC Bestimmung wurde die gesamte Probe verbrannt und das entstehende  $\text{CO}_2$  detektiert. Zur Ermittlung des IC Wertes wurde die Probe mit 0,1 M HCl versetzt, um vorhandenes Carbonat oder Bicarbonat zu  $\text{CO}_2$  zu oxidieren welches mit einem Inertgasstrom ausgetrieben und detektiert wurde. Der TOC Wert ergibt sich abschließend aus der Subtraktion  $\text{TC} - \text{IC} = \text{TOC}$ . Sämtliche beschriebenen Arbeitsschritte zur IC, TC oder TOC Bestimmung erfolgten nach der Probeneingabe in den Probennehmer vollautomatisiert.

#### 4.4.2.4 UV-VIS Spektroskopie zur Konzentrationsbestimmung

Zur Konzentrationsbestimmung von Myoglobin während der Ultrafiltration einer Proteinmischung bestehend aus BSA/Myoglobin wurden UV-spektroskopische Messungen bei Raumtemperatur an einem CARY50 PROBE UV-Spektrophotometer der Firma VARIAN Inc. (Palo Alto) bei einer Wellenlänge von 409 nm durchgeführt. Die Benötigten Kalibrationsreihen wurden in einem Konzentrationsbereich von 20 - 100 mg/L angesetzt und für jeden pH Wert bzw. jede Salzkonzentration einzeln angefertigt, da die Zusammensetzungen des verwendeten PBS Puffer unterschiedliche UV-Absorptionswerte besaßen. Alle in dieser Arbeit angegebenen Absorptionswerte der vermessenen Proteinlösung repräsentieren den Mittelwert aus 5 Einzelmessungen.

#### 4.4.2.5 Ellipsometrie

Zur Bestimmung der Schichtdicke der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht wurde ein MM16 Ellipsometer der Firma Horiba Jobin Yvon GmbH (Unterhaching) verwendet. Der verwendete Wellenlängenbereich des emittierten Lichtes betrug zwischen 400 - 800 nm und wurde in einem Winkel von 70 ° auf die Proben gegeben. Die Proben wurden im nassen, äquilibrierten Zustand bei einer Temperatur von 37 °C vermessen. Nach jedem Wechsel der Messlösung (Wasser, 10 mM KCl und Tyrode-Lösung) wurde eine Äquilibrationszeit von 30 min. eingehalten. Abb. 4.11 zeigt den verwendeten Versuchsaufbau.

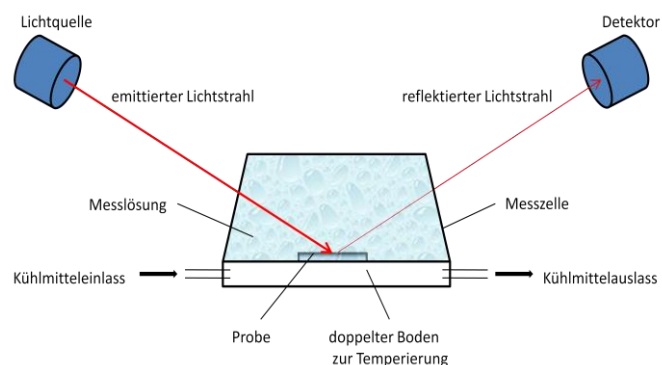


Abb. 4.11: Ellipsometriemessplatz; links: Foto, rechts: Skizze.

#### 4.4.2.6 Rheologie

Um die dynamische Viskosität der Membrangießlösung zu ermitteln wurden Rheologieexperimente an einem Physica MCR 301 Rheometer der Firma Anton Paar GmbH (Graz) durchgeführt. Für die Messung wurden 0,2 mL der Membrangießlösung auf die auf 25 °C temperierte Bodenplatte gegeben und ein planarer Messstempel PP25 verwendet, welcher bis auf eine Spaltbreite von 90 µm heruntergefahren wurde. Es wurde eine Scherrate von  $55,56 \text{ s}^{-1}$  eingestellt, die der Scherrate bei dem Rakelprozess entspricht (90 µm Rakelhöhe und 5 mm/s Vorschub). Nach einer Äquilibrationszeit von 120 s wurde die Messung gestartet und die dynamische Viskosität für 300 s aufgezeichnet, wobei ein Messintervall von 10 s gewählt wurde. Die in dieser Arbeit angegebenen dynamischen Viskositäten entsprechen dem jeweiligen Mittelwert aller 30 Einzelwerte einer Messung.

### 4.5 Proteinseparation via *dead-end* Ultrafiltration durch Kombination von Größen- und Ladungsselektivität

#### 4.5.1 Einstellung der Ultrafiltrationsbedingungen

Zur Durchführung von Ultrafiltrationsexperimenten mit einer PBS gepufferten BSA/Myoglobin-Lösung wurden kommerzielle Sartorius 100 kDa PES Membranen mit einer amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht modifiziert. Um eine Kombination von Größen- und Ladungsselektivität zu erhalten, wurde der IEP dieser Membranen durch eine UV-induzierte Pfropf-Copolymerisation von AMPS und DMAPAA auf einen pH-Wert von 6 eingestellt. Die Modifizierung dieser Membranen erfolgte wie in Kap. 4.2.1 beschrieben. Um möglichst optimale UF-Bedingungen zu generieren, wurde vor den eigentlichen Experimenten der kritische Fluss/Druck der modifizierten Membranen ermittelt. Dazu wurde der Fluss durch die Membran in Abhängigkeit des Druckes in Intervallen von 0,1 bar aufgezeichnet und sowohl für eine Proteinlösung als auch für den reinen Puffer durchgeführt. Dazu wurde ein Messaufbau wie in Kap. 4.4.1.5 beschrieben

verwendet. Die Bestimmung erfolgte dreimal für jede Lösung, wobei immer eine neue Membran verwendet wurde. Die eigentlichen UF-Experimente erfolgten bei einem Initialfluss von  $50 \text{ L/h m}^2$ , da dieser Fluss knapp unter dem ermittelten kritischen Fluss der modifizierten 100 kDa PES UF-Membranen lag.

#### 4.5.2 Durchführung der Proteinultrafiltration

Die Durchführung der Filtration erfolgte wie unter Punkt 4.4.1.5 beschrieben, wobei der pH-Werten von 4,8; 6 und 7, variiert wurde. Die Einstellung des pH-Wertes erfolgte durch die unterschiedliche Mischung von  $20 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$  und  $20 \text{ mM Na}_2\text{HPO}_4$  Lösung entsprechend der Literatur von S.P.L. SÖRENSEN.<sup>[116]</sup> Zusätzlich wurde bei jedem pH-Wert die Ionenstärke von 1 mM, 10 mM und 100 mM verwendet (eingestellt mit NaCl). Somit erfolgte die Proteinultrafiltration mit 9 verschiedenen Lösungen. Bevor die Proteinfiltration durchgeführt wurde, wurde der benötigte Druck zur Einstellung eines Initialflusses von  $50 \text{ L/h m}^2$  bestimmt. Dazu wurde eine Pufferlösung mit entsprechendem pH-Wert und Salzkonzentration verwendet, um die Permeabilität ( $L_{p0}$ ) der Membran entsprechend Gl. (4.10) zu bestimmen. Die Berechnung des benötigten Druckes erfolgte über die Gl. (4.12).

$$p = \frac{50 [\text{L}/(\text{h} \cdot \text{m}^2)]}{L_p [\text{L}/(\text{h} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{bar})]} \quad (4.12)$$

Nach dieser Berechnung wurde die Pufferlösung gegen die Proteinlösung ausgetauscht, der berechnete Druck eingestellt und die Filtration gestartet. Die Zeit betrug 1 h, wobei in einem Intervall von 1 min. die Menge des Permeates gravimetrisch ermittelt und durch eine Datenverarbeitungssoftware (BALINT) automatisch gespeichert wurde. Im Anschluss an die Filtration wurde die Proteinlösung durch den reinen Puffer ersetzt und die Permeabilität ( $L_{pP}$ ) der Membran nach Proteinfiltration bei einem 1 bar bestimmt. In einem nächsten Schritt wurde die Pufferlösung durch 0,1 M Natronlauge (NaOH) ersetzt und diese bei 1 bar für 15 min. filtrierte. Abschließend wurde die Natronlauge wiederum durch die Pufferlösung ersetzt und die Permeabilität ( $L_{p\text{NaOH}}$ ) der Membran nach der Reinigung mit NaOH bestimmt. Mit Hilfe dieser drei bestimmten Permeabilitäten konnte

die jeweilige Flusswiederherstellung ( $J_{wx}$ ) nach der Proteinfiltration ( $J_{wP}$ ) und nach dem Reinigungsschritt ( $J_{wNaOH}$ ) mit Hilfe der Gl. (4.13) ermittelt werden.

$$J_{wx} = \frac{L_{px}}{L_{p0}} \cdot 100 \% \quad (4.13)$$

## 5. Ergebnisse

## 5.1 Kommerzielle Membranen

### 5.1.1 Übersicht verwendeter kommerzieller PES UF-Membranen

Zu Beginn der Dissertation wurden zunächst kommerziell erhältliche PES UF-Membranen mehrerer Hersteller mit einem *Cut-Off* von maximal 5 kDa im Bezug auf Ihre Eignung zur Anwendung für den geplanten *in vivo* Sensor untersucht. Die Typenbezeichnung sowie die nominalen Größenausschlussgrenzen und die Gesamtporosität der Membranen sind in Tab. 5.1 aufgelistet.

Tab. 5.1: Übersicht kommerzieller PES UF-Membranen.

| Membran     | Hersteller | <i>Cut-Off</i><br>[kDa] | Membrandicke<br>[μm] | Gesamtporosität<br>[%] |
|-------------|------------|-------------------------|----------------------|------------------------|
| Biomax      | Millipore  | 5                       | 310                  | 75                     |
| GR95PP      | Alfa Laval | 2                       | 350                  | 75                     |
| Pall 0,65   | Pall       | 0,65                    | 290                  | 44                     |
| Pall 1      | Pall       | 1                       | 280                  | 45                     |
| Pall 3      | Pall       | 3                       | 250                  | 38                     |
| Pall 5      | Pall       | 5                       | 250                  | 38                     |
| PET30       | Oxyphen    | 30 nm Poren             | 12                   | 10                     |
| Sartorius 1 | Sartorius  | 1                       | 135                  | 75                     |
| Sartorius 5 | Sartorius  | 5                       | 122                  | 75                     |

Die PET 30 *track etched* Membran der Firma Oxyphen ist keine anisotrope Ultrafiltrationsmembran, sondern besitzt zylindrische Poren mit einem Durchmesser von ca. 30 nm, welche durch die gesamte Membran verlaufen (vgl. dazu REM Aufnahmen aus Kap. 5.1.2, Seite 73). Diese Membran wurde zur Untersuchung des Einflusses der nanoporösen trennselektiven Oberflächenschicht der anisotropen PES UF-Membranen im Bezug zu den Flusseigenschaften herangezogen.

### 5.1.2 Rasterelektronenmikroskopie

In der nachstehenden Abb. 5.1 sind rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen des Querschnittes der kommerziellen Membranen in alphabetischer Reihenfolge dargestellt.

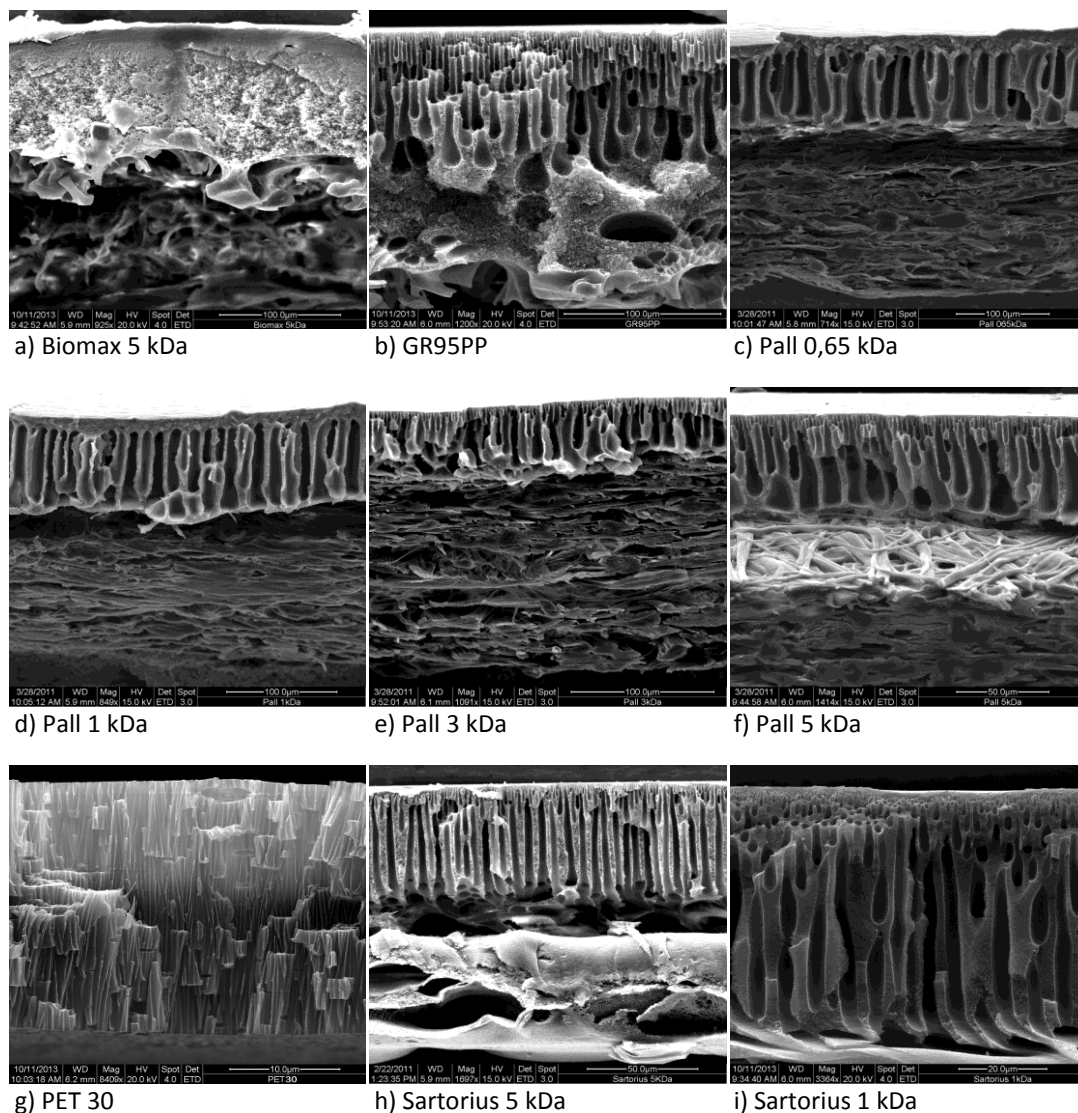


Abb. 5.1: REM Aufnahmen (Querschnitt) der verwendeten Kommerziellen Membranen.

Anhand der REM Aufnahmen in Abb. 5.1. ist sehr gut die anisotrope Struktur der PES Membranen erkennbar. Unter einer wenigen hundert Nanometer dicken, trennselektiven nanoporigen Oberflächenschicht befindet sich eine mehrere Mikrometer dicke Fingerporenstruktur. Des Weiteren ist der unterschiedliche innere Aufbau von anisotropen PES Membranen und einer PET *track etched* Membran, (Bild „g“ in Abb. 5.1) welche zylindrische Poren besitzt die durch den gesamten Membranquerschnitt verlaufen, sehr gut sichtbar.



### 5.1.3 Kontaktwinkel

Zur Charakterisierung der Membranen hinsichtlich ihrer Hydrophilie wurde der Kontaktwinkel der Membranoberfläche (trennselektive Schicht) gemessen. Die ermittelten Kontaktwinkel der Membranen sind in Abb. 5.2 dargestellt.

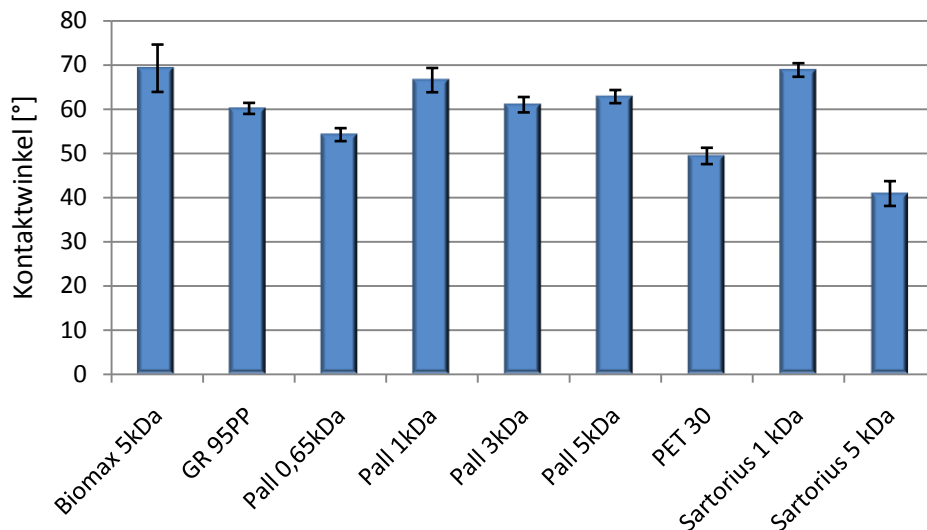


Abb. 5.2: Kontaktwinkel (*captive bubble mode*) der kommerziellen UF-Membranen.

Anhand der Abb. 5.2 ist deutlich zu erkennen, dass die Kontaktwinkel fast aller Membranen in einem Bereich zwischen 50 ° und 70 ° liegen. Einzige Ausnahme ist dabei die 5 kDa PES Membran des Herstellers Sartorius, welche einen Kontaktwinkel von  $40,9^\circ \pm 2,8^\circ$  aufweist. Alle Werte repräsentieren dabei den jeweiligen Mittelwert aus je 5 Membranproben, wobei eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erzielt werden konnte was durch die geringe Standardabweichung (max.  $\pm 5,4^\circ$ ; Biomax 5 kDa) verdeutlicht wird. Generell kann festgehalten werden, dass die Kontaktwinkel in dem erwarteten Bereich für unmodifizierte PES UF-Membranen liegen und keine Abhängigkeit des Kontaktwinkels von der Porengröße ausgemacht werden konnte.

### 5.1.4 Zetapotentialmessung

Um nähere Informationen über die elektrochemischen Oberflächeneigenschaften der kommerziellen Membranen zu erlangen, wurden Zetapotentialmessungen durchgeführt. Die erhaltenen Resultate sind in Abb. 5.3 illustriert.

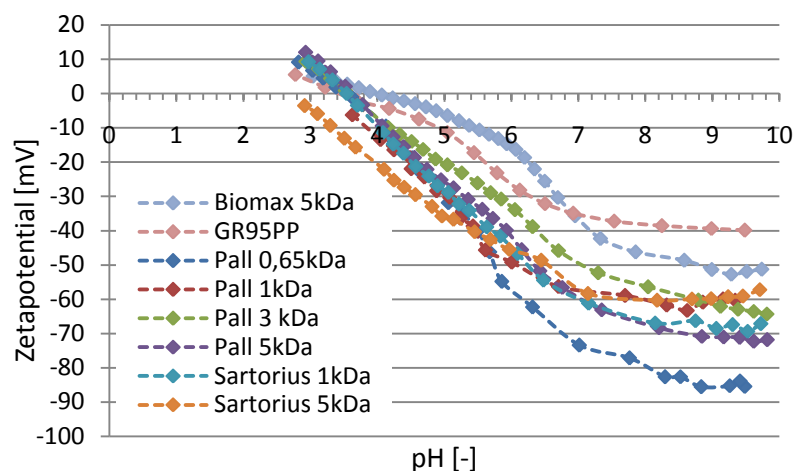


Abb. 5.3: Übersicht der Zetapotentialverläufe kommerzieller PES UF-Membranen.

Anhand der Abb. 5.3 ist deutlich zu erkennen, dass alle vermessenen Membranen in einem großen pH Bereich von 10 - 4 über ein netto negatives Zetapotential verfügen. Dabei besitzt die 0,65 kDa Pall Membran das am stärksten negative Zetapotential von minus 85 mV bei pH 9,8, wohingegen die Membran GR95PP von Alfa Laval bei demselben pH-Wert das am wenigsten negative Zetapotential von minus 40 mV aufweist. Der jeweilige isoelektrischen Punkt der Membranen (pH Wert an welchem das Zetapotential = 0 ist), variieren dabei lediglich zwischen pH 2,8 - 3,8. Um den IEP der Membranen besser darstellen zu können sind diese in Abb. 5.4 separat aufgezeigt.

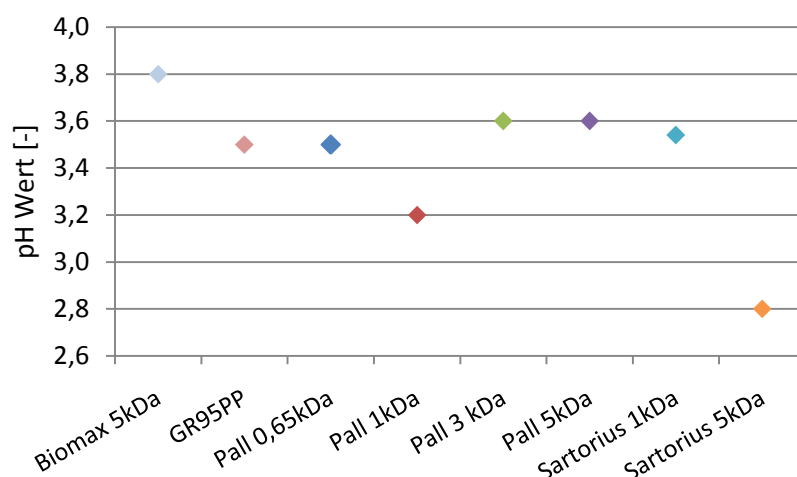


Abb. 5.4: Isoelektrischer Punkt der kommerziellen PES UF-Membranen.

Bei dem Vergleich der isoelektrischen Punkte der Biomax 5 kDa und der Sartorius 5 kDa Membran ist ersichtlich, dass die isoelektrischen Punkte bei gleichem angegeben *Cut-Off* und gleichem Membranmaterial um eine pH-Wert Einheit voneinander abweichen. Die übrigen Membranen besitzen mit Ausnahme der 1 kDa Pall Membran fast den gleichen IEP von 3,5 bzw. 3,6.

### 5.1.5 Kaliumdiffusion

Entscheidendes Charakteristikum einer potentiellen Membran zur Anwendung in dem geplanten *in vivo* Sensor ist die Durchlässigkeit für Kalium-Ionen. In Abb. 5.5 sind die mit Hilfe von Gl. (4.7) (siehe Seite 56) ermittelten Kaliumflüsse aus Kaliumdiffusions-experimenten gegen die jeweilige Membrandicke aufgetragen.

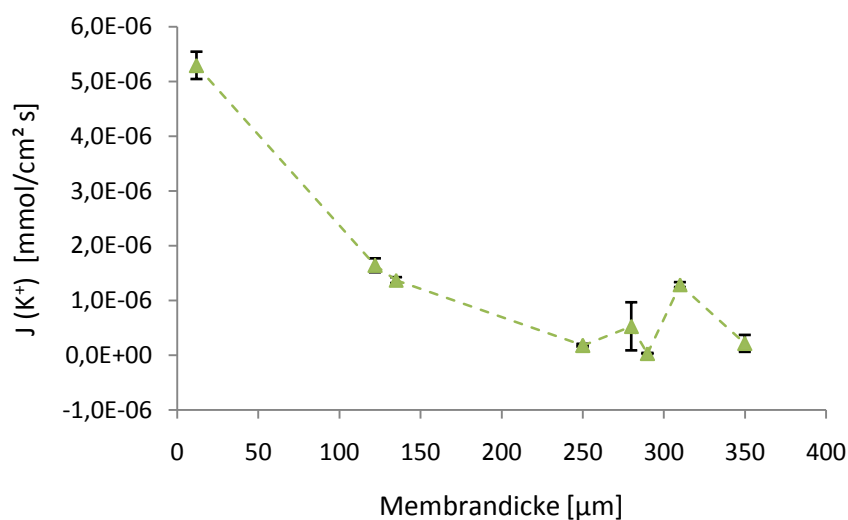


Abb. 5.5: Abhängigkeit des ermittelten Kaliumflusses von der Membrandicke.

Entsprechend der Daten in Abb. 5.5 kann man den vorherrschenden Trend sehr gut erkennen, dass der Fluss der Kalium-Ionen mit reduzierter Membrandicke zunimmt. Dieser Verlauf war zu erwarten, da mit größer werdender Membrandicke die zurückzulegende Wegstrecke ebenfalls größer wird und der Transport durch die Membran somit einen längeren Zeitraum in Anspruch nimmt. Einzige Ausnahme bildet hierbei die Biomax 5 kDa Membran (310 µm), welche trotz größerer Membrandicke einen größeren Fluss als die vier Pall Membranen (250 - 290 µm) besitzt.

Darüber hinaus wurde der Kaliumfluss durch die verschiedenen Membranen auch unter Berücksichtigung der Gesamt- bzw. Oberflächenporosität der Membranen berechnet.

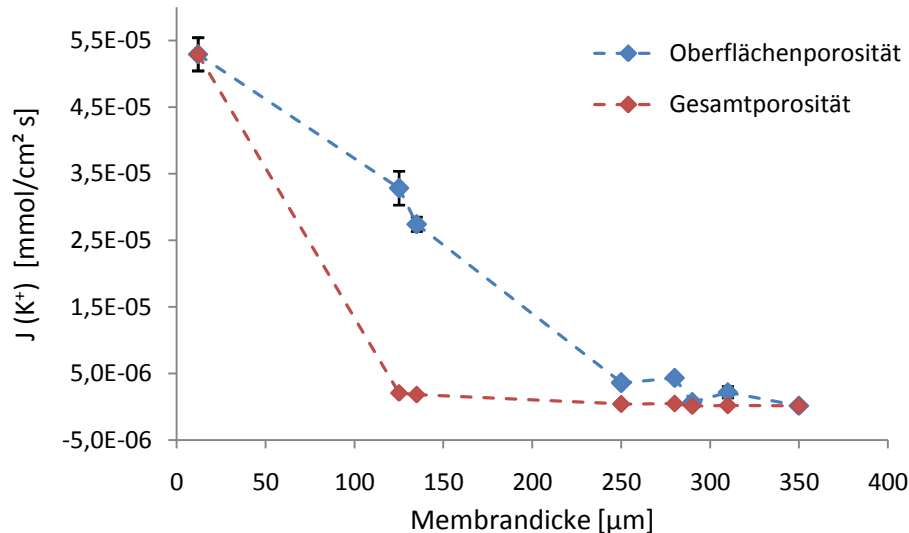


Abb. 5.6: Abhängigkeit des Kaliumflusses von der Membrandicke. Blau: Berechnet mit der Oberflächenporosität (5%); rot: Berechnet mit der Gesamtporosität (variierende Werte). Anmerkung: Zum Teil sind die Fehlerbalken kleiner als der dargestellte Datenpunkt, wodurch nicht alle Fehlerbalken optisch sichtbar sind.

Dabei wurden zur Berechnung der Substanzflüsse zwei unterschiedliche Membranporositäten verwendet. Zum Einen wurde die Gesamtporosität der Membran als Berechnungsgrundlage benutzt (siehe Tab. 5.1 Seite 72), zum Anderen eine hypothetische Oberflächenporosität von 5 % angenommen. Dieser Wert entspricht dabei der üblichen Oberflächenporosität von anisotropen Ultrafiltrationsmembranen.<sup>[117]</sup> Einzige Ausnahme bildet dabei die PET 30 *track etched* Membran, da bei diesem Membrantyp die Oberflächenporosität der Gesamtporosität entspricht. Die Verwendung der Gesamtporosität als Berechnungsgrundlage für den Kaliumfluss sowie der Kaliumdiffusion ist streng genommen unzulässig, da entsprechend dem Widerstandsmodell der Transport durch die trennselektive Oberflächenschicht der limitierende Faktor ist. Jedoch ist die direkte experimentelle Bestimmung der Oberflächenporosität am Lehrstuhl für Technische Chemie für so kleinporige Ultrafiltrationsmembranen nicht möglich, sondern muss aus Referenzmessungen (Dextranrückhalt und Wasserpermeabilität) berechnet werden.<sup>[118]</sup> Dazu wird entsprechend des Rückhaltes von 90 % die dazugehörige Größe der Dextranmoleküle

berechnet. Anschließend kann die korrespondierende Porengröße und somit die Oberflächenporosität nach Gl. (5.1) ermittelt werden.

$$\varepsilon = \frac{3 \cdot \pi \cdot \eta \cdot J}{d_p \cdot \Delta p} \quad (5.1)$$

$\varepsilon$ : Oberflächenporosität

Da vor allem die GPC Anlage über einen sehr langen Zeitraum nicht vollständig einsatzbereit war, entfiel diese Option zusätzlich. Aus diesem Grund wurde die Entscheidung getroffen, die leicht zu ermittelnde Gesamtporosität der Membranen zu verwenden.

Entsprechend der Daten in Abb. 5.6 kann man sehr gut erkennen, dass der vorherrschende Trend durch die Berücksichtigung der verschiedenen Porositäten erhalten bleibt. Der Fluss der Kalium-Ionen nimmt mit reduzierter Membrandicke zu, wobei die Absolutwerte aller Proben größer werden. Dieser Verlauf war zu erwarten, da mit Berücksichtigung der Porosität die effektive in die Berechnung einfließende Membranfläche kleiner wird. Ferner kann unter Verwendung der Gl. (2.4) (siehe Seite 7) aus denselben Diffusionsexperimenten der effektive Kaliumdiffusionskoeffizient berechnet werden. Auch diese Werte wurden für die beiden verschiedenen Porositäten berechnet und sind in Abb. 5.7 aufgezeigt sowie in Tab. 5.2 aufgelistet.

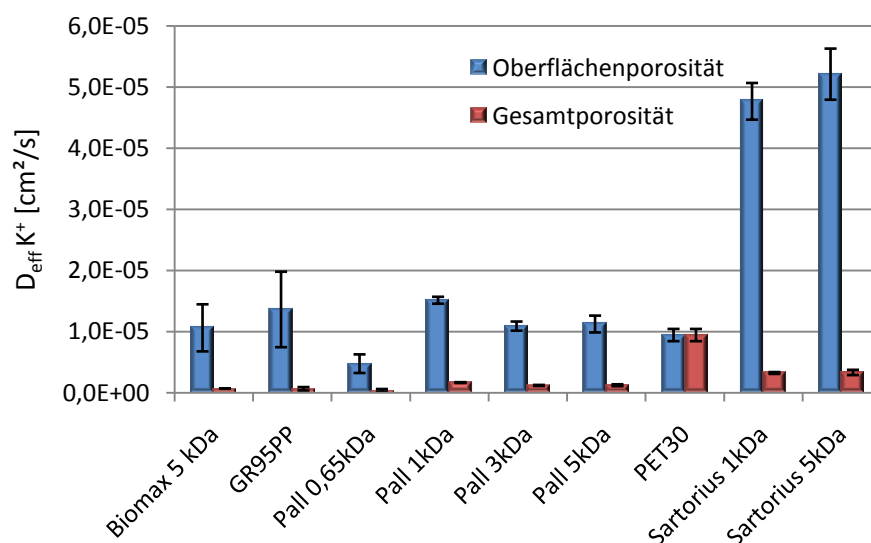


Abb. 5.7: Ermittelte effektive Kaliumdiffusionskoeffizienten der kommerziellen Membranen.

Betrachtet man zuerst die berechneten effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten unter Verwendung der Gesamtporosität der Membranen, so besitzt die PET 30 *track etched* Membran den mit Abstand größten und die Pall 0,65 kDa Membran den kleinsten Diffusionskoeffizienten. Dieser Sachverhalt entspricht den Erwartungen, da die PET 30 Membran die geringste Schichtdicke (12  $\mu\text{m}$ ) und die mit Abstand größten Poren besitzt, wohingegen die Pall 0,65 kDa Membran den geringsten Porendurchmesser der trennselektiven Schicht aufweist.

Tab. 5.2: Ermittelte effektive Kaliumdiffusionskoeffizienten der kommerziellen Membranen.

| Membran        | $D_{\text{eff}} (\text{K}^+) [\text{cm}^2/\text{s}]$ |                                       |
|----------------|--|---------------------------------------|
|                | Gesamtporosität                                      | Oberflächenporosität                  |
| Biomax 5 kDa   | $7,09\text{E-}07 \pm 2,59\text{E-}08$                | $1,06\text{E-}05 \pm 3,85\text{E-}06$ |
| GR95PP         | $6,66\text{E-}07 \pm 2,77\text{E-}07$                | $1,36\text{E-}05 \pm 6,17\text{E-}06$ |
| Pall 0,65kDa   | $3,96\text{E-}07 \pm 2,32\text{E-}07$                | $3,48\text{E-}06 \pm 2,04\text{E-}06$ |
| Pall 1kDa      | $1,68\text{E-}06 \pm 6,28\text{E-}08$                | $1,51\text{E-}05 \pm 5,65\text{E-}07$ |
| Pall 3kDa      | $1,22\text{E-}06 \pm 8,28\text{E-}08$                | $1,09\text{E-}05 \pm 7,46\text{E-}07$ |
| Pall 5kDa      | $1,25\text{E-}06 \pm 1,53\text{E-}07$                | $1,13\text{E-}05 \pm 1,38\text{E-}06$ |
| PET30          | $9,45\text{E-}06 \pm 1,00\text{E-}06$                | $9,45\text{E-}06 \pm 1,00\text{E-}06$ |
| Sartorius 1kDa | $3,25\text{E-}06 \pm 1,51\text{E-}07$                | $4,87\text{E-}05 \pm 2,26\text{E-}06$ |
| Sartorius 5kDa | $3,34\text{E-}06 \pm 4,31\text{E-}07$                | $5,21\text{E-}05 \pm 4,18\text{E-}06$ |

Bei dem Vergleich der effektiven Diffusionskoeffizienten unter Berücksichtigung der geschätzten Oberflächenporosität zeigt sich, dass alle Membranen mit Ausnahme der Sartorius 1 und 5 kDa annähernd vergleichbare Diffusionskoeffizienten für Kalium hervorbringen.

Vergleicht man darüber hinaus die Diffusionskoeffizienten der vier verschiedenen Pall Membranen, sowie die beiden Sartorius Membranen, kann ferner eine Abhängigkeit der Kaliumdiffusion vom *Cut-Off* beschrieben werden. Einzig die 1 kDa Pall Membran folgt nicht diesem Trend.

Anhand der Ergebnisse aus Kap. 5.1.5 lässt sich abschließend festhalten, dass keine kommerziell erhältliche PES UF Membran mit einem maximalen *Cut-Off* von 5 kDa existiert, deren Membrandicke weniger als 120  $\mu\text{m}$  beträgt. Aus diesem Grund wurde die

Entwicklung einer eigenen, 5 kDa PES UF Membran mit einer Membrandicke von 45  $\mu\text{m}$  voran getrieben.

## 5.2 Herstellung und Charakterisierung der Basismembran

### 5.2.1 Variation der Gießlösung

Das Ansetzen der Membrangießlösungen (Dope-Lösung) und die Herstellung eigener PES Membranen erfolgte wie in Kap. 4.1.1 und 4.1.2 beschrieben. Die schrittweise Optimierung der Zusammensetzung der Dope-Lösung ist in Tab. 5.3 aufgelistet.

Tab. 5.3: Zusammensetzung der Dope-Lösungen.

| Komponente [w%]              | 1. Ansatz   | 2. Ansatz   | 3. Ansatz | 4. Ansatz |
|------------------------------|-------------|-------------|-----------|-----------|
| Aceton                       | -           | -           | -         | 9         |
| LiBr                         | -           | -           | 2         | 2         |
| NMP                          | 51          | 69          | 67        | 67        |
| PEG 400                      | 30          | 10          | 10        | -         |
| PES                          | 18          | 20          | 20        | 21        |
| PVP                          | 1           | 1           | 1         | 1         |
| $L_p$ [L/h $\text{m}^2$ bar] | $\sim 2200$ | 1050 - 1250 | 380 - 512 | 40 - 55   |

Die Zusammensetzung der ersten Dope-Lösung orientierte sich an vergleichbaren Lösungen zur Herstellung von PES UF-Membranen.<sup>[31]</sup> Als schnell bestimmbare Größe zur Membran Charakterisierung fungierte dabei der Vergleich der Wasserpermeabilität der selbst produzierten Membranen ( $\sim 2200 \text{ L/h m}^2 \text{ bar}$  für die ersten Membranen) und einer Sartorius 5 kDa Membran ( $\sim 16 \text{ L/h m}^2 \text{ bar}$ ). Im nächsten Schritt wurde der Anteil von PEG 400 reduziert und der Anteil von PES in der Dope-Lösung erhöht, wodurch sich die Wasserpermeabilität auf 1050 - 1250  $\text{L/h m}^2 \text{ bar}$  reduzierte. Entsprechend der Literatur<sup>[119,120]</sup> erfolgte im nächsten Schritt die Zugabe von LiBr zur Komplexierung der NMP Lösungsmittelmoleküle und der damit einhergehenden veränderten Viskosität der Dope-Lösung. Dadurch reduzierte sich die Wasserpermeabilität erneut auf 380 - 512  $\text{L/h m}^2 \text{ bar}$ . In einem letzten Optimierungsschritt wurde nun das vorhandene PEG 400 durch Aceton als weiteres Lösungsmittel ersetzt.<sup>[121]</sup> Die resultierenden Membranen besaßen eine Wasserpermeabilität zwischen 40 - 55  $\text{L/h m}^2 \text{ bar}$ , sodass mit dieser Zusammensetzung

[80]

weiter experimentiert und der Einfluss von LiBr auf die Wasserpermeabilität untersucht wurde. Dazu wurde der Anteil an LiBr zwischen 0 und 4 w% variiert.

### 5.2.2 Rasterelektronenmikroskopie

Den signifikanten Einfluss des LiBr Anteils der Dope-Lösung auf die resultierende Membranstruktur ist in Abb. 5.8 zu sehen. Durch das vorhandene LiBr in der Dope-Lösung werden die Lösungsmittelmoleküle (NMP und Aceton) über eine Ion-Dipol Wechselwirkung komplexiert, wodurch sich die Viskosität der Dope-Lösung erhöht und der Lösungsmittelaustausch im Phasenseparationsprozess stetig langsamer erfolgt. Dadurch ist ein deutlicher Übergang von einer anisotropen Membranstruktur hin zu einer Schwammstruktur beobachtbar. Dies ist vor allem bei einer Erhöhung des LiBr Anteils von 2 w% auf 3 w% besonders ausgeprägt.

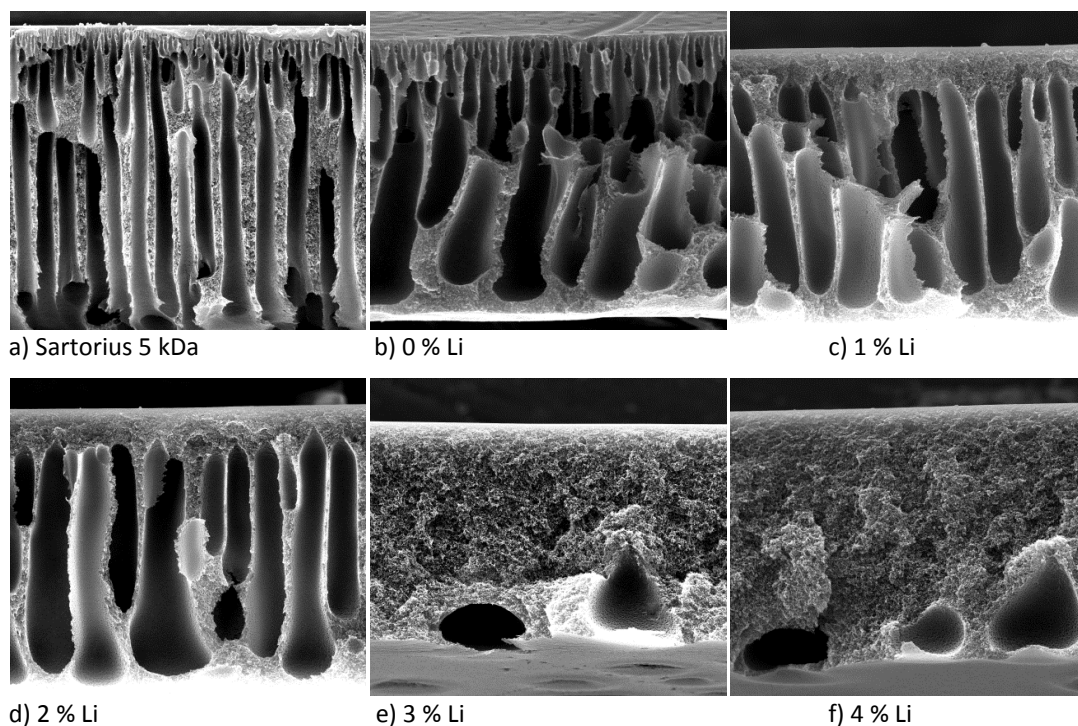


Abb. 5.8: Einfluss des LiBr Anteils auf die resultierende Membranstruktur.



### 5.2.3 Dextranrückhalt

Die fünf verschiedenen Membranen wurden hinsichtlich ihres Rückhaltes von Dextran 10 kDa sowie der Wasserpermeabilität untersucht. Die erzielten Ergebnisse sind gemeinsam mit der gemessenen Viskosität der Dope-Lösungen in Abb. 5.9 dargestellt.

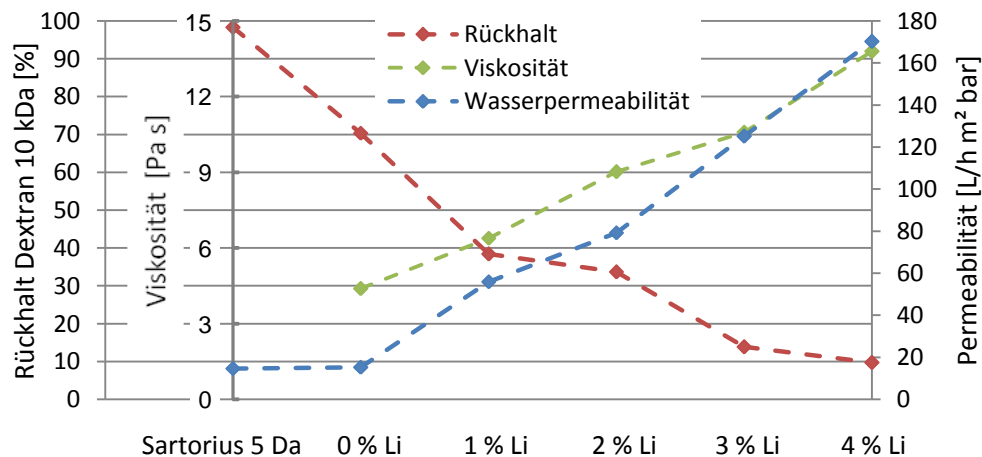


Abb. 5.9: Verlauf von Dextran Rückhalt, Viskosität und Wasserpermeabilität der produzierten Membranen in Bezug zum LiBr Gehalt der Dope-Lösung.

In Abb. 5.9 lässt sich der massive Einfluss des LiBr-Gehaltes in der Dope-Lösung auf die Membranperformance ablesen. Mit steigender Viskosität verlangsamt sich der Lösungsmittelaustausch während des Phasenseparationsprozesses kontinuierlich, was zur Folge hat, dass die Bildung und Auflösung von Fällungskeimen nahezu im Gleichgewicht ist und keine spontane Fällung mehr auftritt. Das wiederum erzeugt eine offenporigere Membranstruktur, abzulesen anhand des stringenten Zuwachses der Wasserpermeabilität und dem damit einhergehenden reduzierten Dextranrückhalt.

Auf Grundlage dieser Ergebnisse wurde die Membran ohne LiBr in der Dope-Lösung als „Basismembran“ für nachfolgende Experimente ausgewählt und trägt ab sofort diese Bezeichnung in der vorliegenden Dissertation.

### 5.2.4 Reproduzierbarkeit der Basismembran

Nachdem die Zusammensetzung der Dope-Lösung zur Erzeugung der Basismembran festgelegt wurde, bestand der nächste Arbeitsschritt in der Überprüfung der

Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Da der Rakelprozess für eine Membran etwa 30 s beansprucht, wurde zunächst die Homogenität der Membranen ermittelt. Unterschiede in der Membranstruktur können durch eine variierte Expositionszeit der Protomembran an Luft zu einem unterschiedlichen Verdampfen für das in der Lösung enthaltene Aceton führen. Die Abb. 5.10 veranschaulicht dabei die Probenentnahme von 25 mm kreisrunden Proben nach der Herstellung einer Membran zur Überprüfung der Homogenität.

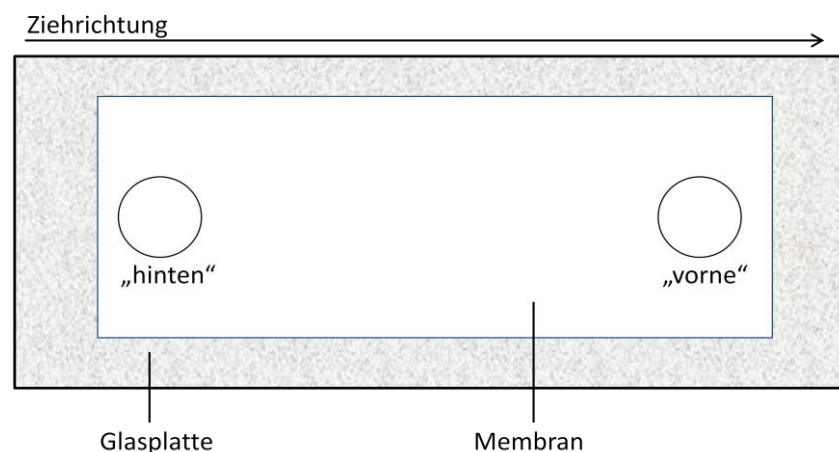


Abb. 5.10: Schematische Aufsicht auf eine gerakelte Membran mit Ort der Probenentnahme.

Es wurden Proben aus insgesamt 10 Membranen („vorne“ und „hinten“) entnommen und der Rückhalt von Dextran 10 kDa gemessen. Die erhaltenen Werte sind in Tab. 5.4 aufgelistet.

Tab. 5.4: Rückhalt von Dextran 10 kDa zur Ermittlung der Membranhomogenität.

| Membran | Rückhalt<br>"vorne"<br>[%] | Rückhalt<br>"hinten"<br>[%] |
|---------|----------------------------|-----------------------------|
| 1       | 77,3                       | 72,4                        |
| 2       | 79,3                       | 78,8                        |
| 3       | 64,5                       | 78,3                        |
| 4       | 78,0                       | 75,0                        |
| 5       | 73,7                       | 73,1                        |
| 6       | 78,7                       | 78,1                        |
| 7       | 76,6                       | 73,5                        |
| 8       | 74,2                       | 68,4                        |
| 9       | 73,9                       | 77,5                        |
| 10      | 70,2                       | 71,0                        |
| [83]    |                            |                             |

Mit Ausnahme von Probe Nr.3 weisen alle übrigen Membranen keine signifikanten Unterschiede in der Membranstruktur an den beiden Enden auf. Die gewählten Rakelbedingungen sind somit geeignet, homogene PES Membranen zu erzeugen.

Darüber hinaus wurde die Reproduzierbarkeit der Membranherstellung an verschiedenen Tagen getestet. Auch hier erfolgten wieder Probenentnahmen aus den gerakelten Membranen und eine Bestimmung des Dextranrückhaltes.

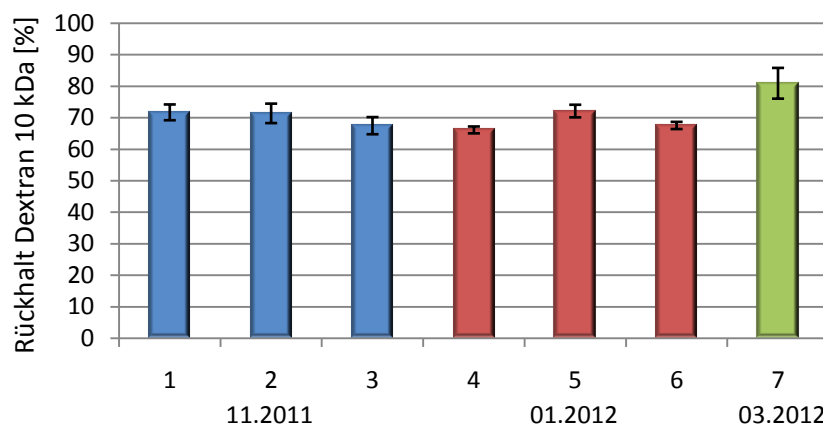


Abb. 5.11: Reproduzierbarkeit der Membranpräparation.

Jede Säule in Abb. 5.11 repräsentiert dabei den Mittelwert aus drei einzeln vermessenen Membranproben. Der gemessene Rückhalt beträgt in etwa immer 70 % mit einer leichten Schwankung von Membran zu Membran. Jedoch weisen die Membranproben vom 21.03.2012 einen leicht erhöhten Rückhalt von  $80,9 \pm 4,9$  % im Vergleich zu den sonst ermittelten 70 % auf. Dies ist jedoch eine Abweichung im positiven Sinn, da die Basismembran einen möglichst niedrigen *Cut-Off* von ca. 5 kDa aufweisen soll und die 5 kDa PES Referenzmembran von Sartorius einen Dextran 10 kDa Rückhalt von ca. 98 % besitzt (vgl. Rückhalt aus Abb. 5.9, Seite 82).

### 5.2.5 Größenausschlussgrenze

Zur Bestimmung des *Cut-Offs* der selbstproduzierten Basismembran wurde eine Dextranfiltration wie in Kap. 4.4.1.7 beschrieben durchgeführt. Die erhaltene Siebkurve ist in Abb. 5.12 dargestellt.

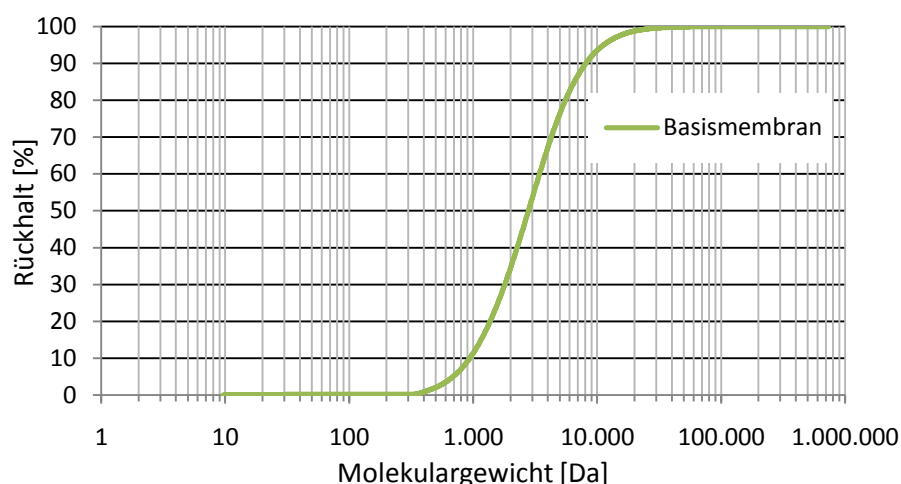


Abb. 5.12: Siebkurve der selbstproduzierten Basismembran.

Der *Cut-Off*, welcher einem Dextranrückhalt von 90 % entspricht, beträgt dabei 8,1 kDa. Dieser Wert weicht nur geringfügig von der Zielvorgabe von 5 kDa ab, sodass von einer weiteren Membranoptimierung abgesehen wurde und der Entwicklungsprozess der Basismembran abgeschlossen war.

### 5.2.6 Ermittlung des effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten

Die Ermittlung des effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten erfolgte wie in Kap. 4.4.1.2 beschrieben. In Tab. 5.5 sind die ermittelten Diffusionskoeffizienten von 10 Membranproben verzeichnet.

Tab.5.5: Effektive  $K^+$  Diffusionskoeffizienten der selbstpräparierten Basismembran.

| Membran    | $D_{\text{eff}} K^+ [\text{cm}^2/\text{s}]$ |
|------------|---|
| 1          | 1,65E-06                                    |
| 2          | 2,10E-06                                    |
| 3          | 1,86E-06                                    |
| 4          | 2,57E-06                                    |
| 5          | 2,55E-06                                    |
| 6          | 2,88E-06                                    |
| 7          | 2,23E-06                                    |
| 8          | 2,94E-06                                    |
| 9          | 1,67E-06                                    |
| 10         | 1,56E-06                                    |
| Mittelwert | 2,20E-06                                    |
| stabwn     | 4,88E-07                                    |

Die Mehrheit der selbstproduzierten Basismembranen zeigt eine vergleichbare Kaliumdiffusion, jedoch weichen die Proben 1, 3, 9 und 10 stärker von den restlichen Proben ab, wodurch eine Standardabweichung von 22 % resultiert. Würden diese Proben bei der Berechnung des Mittelwertes und der Standardabweichung nicht mit einbezogen, würde sich die Abweichung von dem neuen Mittelwert auf 12 % reduzieren.

## 5.3 Erste Membranmodifizierung mit amphoterer Ionenaustauscherschicht

### 5.3.1 Funktionalisierungsgrad

Die ersten Experimente zur Generierung der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht beinhalteten zunächst die Variation der Gesamtmonomerkonzentration (100, 150 und 200 mM) sowie der UV-Belichtungszeit (15 und 25 min) unter Verwendung der kommerziellen Sartorius 5 kDa Membran, um den Einfluss dieser beiden Größen auf das Pfropfungsergebnis zu untersuchen. Der Funktionalisierungsgrad (DG-Wert) dieser Variationen wurde gravimetrisch ermittelt. Abb. 5.13 stellt die ermittelten DG-Werte dar.

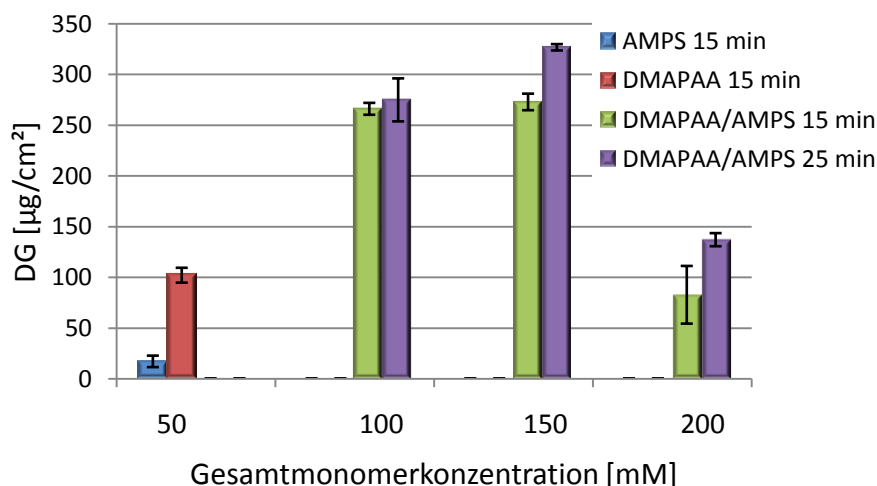


Abb. 5.13: Funktionalisierungsgrad der Kompositmembranvariationen.

Werden die beiden Monomere einzeln auf die Membran grafted, resultiert ein 6-mal größer DG-Wert bei der Verwendung von reinem DMAPAA im Vergleich zu reinem AMPS.

Werden beide Monomere hingegen gemeinsam als Copolymer aufgebracht, erhöht sich der DG-Wert mit steigender Monomerkonzentration und Belichtungszeit auf bis zu  $327 \pm 3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $c = 150 \text{ mM}$ ;  $t = 25 \text{ min}$ ) und sinkt dann bei einer weiteren Steigerung der Konzentration auf  $200 \text{ mM}$  auf unter  $150 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ab. Die Tendenz, dass mit steigender Belichtungszeit und Monomerkonzentration ein erhöhter DG-Wert resultiert, entspricht dabei den Erwartungen. Mit steigender Konzentration sind mehr Reaktionspartner in der Lösung vorhanden und mit steigender Belichtungszeit können die Polymerketten über einen längeren Zeitraum wachsen. Der Einfluss der Belichtungszeit spiegelt sich auch bei den Ergebnissen bei einer Konzentration von  $200 \text{ mM}$  wieder, wenngleich auch die DG-Werte niedriger sind als bei einer Konzentration von  $150 \text{ mM}$ . Anhand der Ergebnisse aus Abb. 5.13 wurde die Entscheidung getroffen, zukünftige Experimente nur mit einer Gesamtmonomerkonzentration von  $150 \text{ mM}$  durchzuführen.

### 5.3.2 Kontaktwinkelmessung

Die Kontaktwinkel der 6 verschiedenen Kompositmembranen mit der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht (reine AMPS bzw. DMAPAA Modifizierungen wurden nicht vermessen) wurden mit Hilfe der *captive-bubble* Methode vermessen um die Änderung der Hydrophilie der Membranoberfläche zu analysieren.

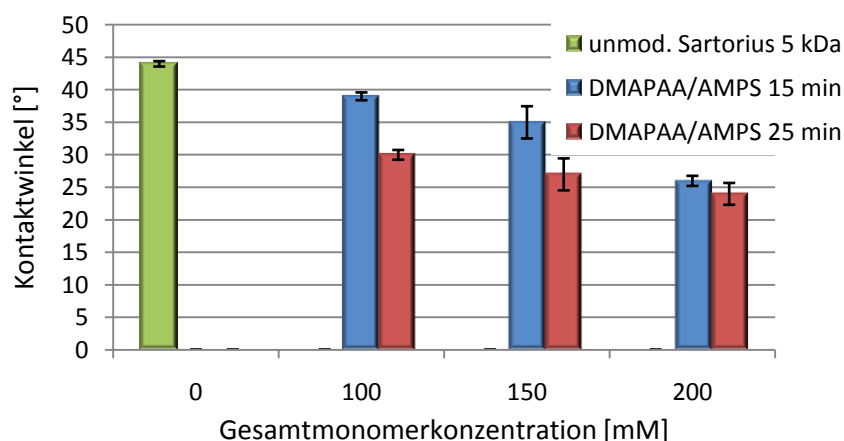


Abb. 5.14: Kontaktwinkel der synthetisierten Hydrogel-Kompositmembranen in Abhängigkeit der Monomerkonzentration und der Belichtungszeit.

Der Kontaktwinkel der Hydrogel-Kompositmembranen reduziert sich kontinuierlich mit steigender Monomerkonzentration und Belichtungszeit, was gleichbedeutend mit einer stetig zunehmenden Hydrophilie der Membranoberfläche ist. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den erzielten DG-Werten aus Kap. 5.3.1, so tritt für die Ergebnisse bei 200 mM Monomerkonzentration eine Diskrepanz auf. Diese Membranen besitzen trotz eines geringeren Funktionalisierungsgrad einen niedrigeren Kontaktwinkel als die übrigen Membranen.

### 5.3.3 Zetapotentialmessung

Wichtigstes Kriterium für die Anwendung der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherbeschichtung im humanen Blutkreislauf ist die richtige Einstellung des isoelektrischen Punktes auf den pH-Wert des Blutes (7,4). Somit stellt die Bestimmung des Zetapotentials (ZP) der Hydrogel-Kompositmembranen das wichtigste Charakteristikum dar. In der nachfolgenden Abb. 5.14 sind die ZP Verläufe der unmodifizierten und modifizierten Sartorius 5 kDa Membran dargestellt.

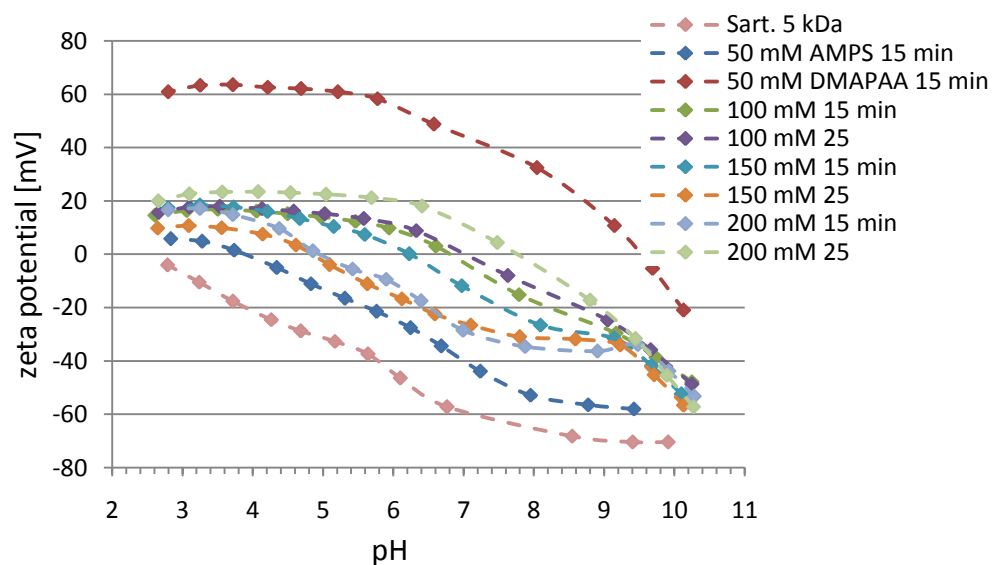


Abb. 5.15: Zetapotentialverläufe der Hydrogel-Kompositmembranen.

Sämtliche DMAPAA/AMPS Mischungen liegen mit dem resultierenden Zetapotential zwischen den Verläufen des reinen AMPS bzw. DMAPAA, was den Erwartungen entspricht. Auffällig ist jedoch die Tatsache, dass die Membran, welche nur mit AMPS

modifiziert wurde, vom Absolutwert her ein positiveres ZP aufweist, obwohl negative Ladungsträger auf die Membranoberfläche gebracht wurden. Weiterhin bleibt anzumerken, dass keine der 6 verschiedenen DMAPAA/AMPS Mischungen eine Hydrogelstruktur mit einem IEP = 7,4 hervorbringt und der IEP der Membranen mit der favorisierten Monomerkonzentration von 150 mM bei 6,1 bzw. 4,9 zu sehr im sauren Milieu liegt.

### 5.3.4 Einstellung des isoelektrischen Punktes

Anhand der Zetapotentialverläufe aus Abb. 5.15 wurde das Mischungsverhältnis von 1/1 der beiden Monomere untereinander neu gewählt. Da der IEP bei der Verwendung einer Gesamtmonomerkonzentration von 150 mM bei 6,1 bzw. 4,9 lag, wurden Mischungsverhältnisse von DMAPAA/AMPS 60/40 mol% sowie 55/45 mol% getestet und somit ein höherer Anteil des Aminmonomeres eingesetzt.

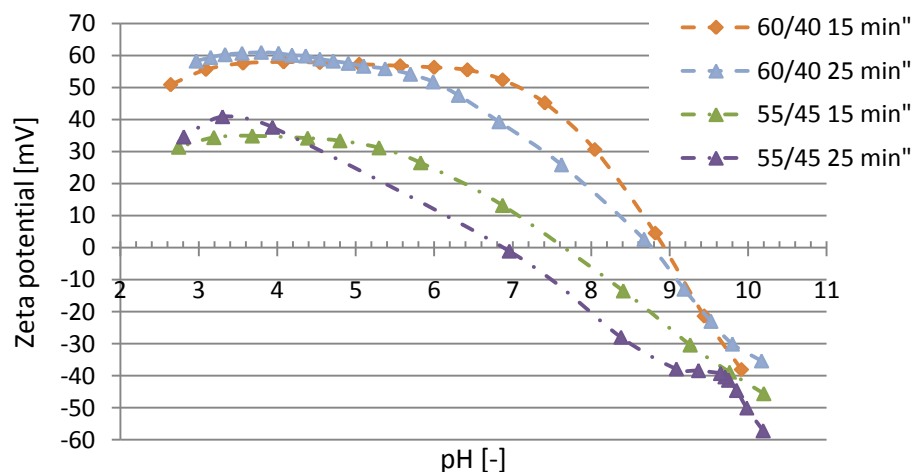


Abb. 5.16: Zetapotentialverläufe der Hydrogel Kompositmembranen mit DMAPAA/AMPS Mischungen von 60/40 und 55/45 zur Anpassung des IEPs.

Der IEP bei der Verwendung einer Mischung von 60/40 DMAPAA/AMPS liegt im Vergleich zu den 1/1 Mischungen zu weit im basischen Milieu, was auf einen zu hohen Anteil des Aminmonomeres DMAPAA zurückzuführen ist. Dem gegenüber liegt der IEP der Mischung 55/45 und 15 min Belichtungszeit bei 7,6 und bei einer Belichtungszeit von 25 min bei 6,8. Da der gewünschte IEP zwischen diesen beiden Werten liegt, wurde eine weitere Mischung bestehend aus 53/47 mol% DMAPAA/AMPS getestet.



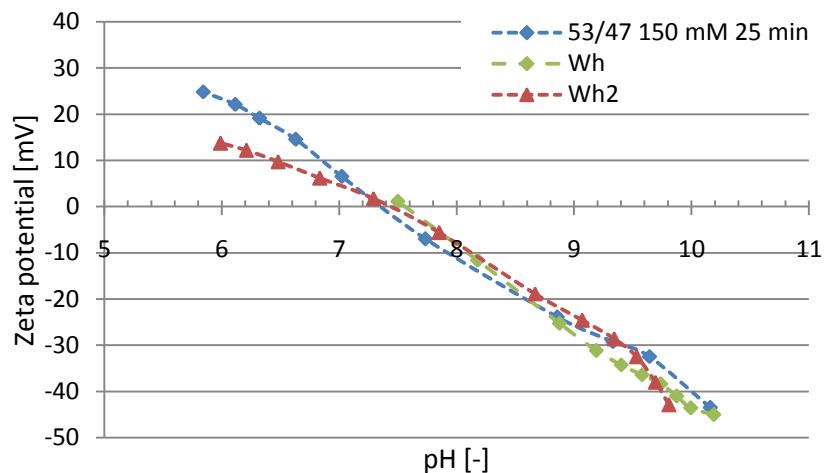


Abb. 5.17: Zetapotential von Hydrogel Kompositmembranen mit einer Mischung von 53/47 mol% zur Einstellung des IEP.

Mit diesem Mischungsverhältnis, einer Gesamtmonomerkonzentration von 150 mM und einer Belichtungszeit von 25 min konnte die Einstellung des IEPs auf den pH-Wert des Blutes von 7,4 erfolgreich durchgeführt werden, um eine amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherbeschichtung auf Sartorius 5 kDa Membran photochemisch zu grafted. Darüber hinaus konnte dieses Ergebnis reproduziert werden, wobei eine minimale Schwankung des IEPs von  $\pm 0,1$  auftrat.

Es sei an dieser Stelle noch einmal ausdrücklich darauf hingewiesen, dass sämtliche Ergebnisse bezüglich der Hydrogel-Kompositmembranen bis zu dieser Stelle mit kommerziellen Sartorius 5 kDa Membranen erzielt wurden. Nachdem die selbstproduzierte 45  $\mu\text{m}$  dünne PES Basismembran vorlag, bestand der nächste Entwicklungsschritt in der Übertragung der Ergebnisse aus Abb. 5.17 auf diese neue Membran.

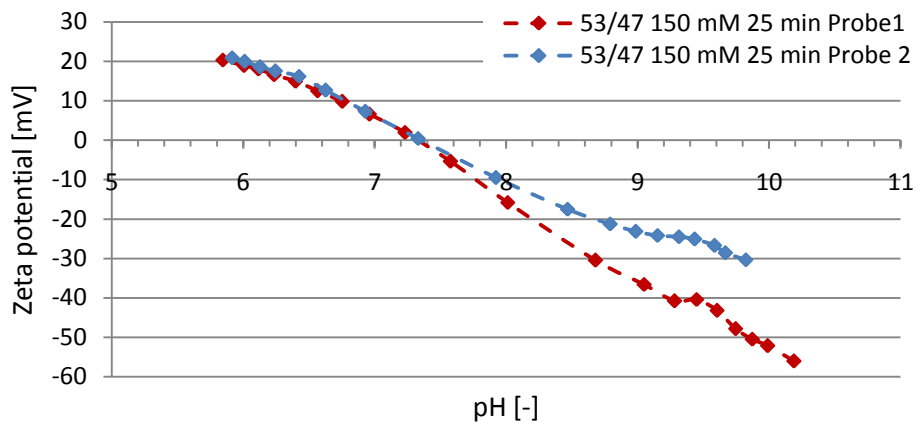


Abb. 5.18: Zetapotential von selbst produzierten PES Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht.

Wie aus Abb. 5.18 ersichtlich ist, konnte die Synthese der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht erfolgreich auf die selbstproduzierte Membran übertragen werden, da auch bei dieser Membran unter Verwendung derselben Synthesebedingungen der IEP bei einem pH-Wert von 7,4 lag. Darüber hinaus konnte die Reproduzierbarkeit der Synthese auch bei einer erneuten Membranmodifizierung nachgewiesen werden. Damit hat sich das unter Kap. 3 vorgestellte Konzept zur Entkopplung der Membranentwicklung und der Oberflächenmodifizierung als erfolgreich bewahrheitet, wodurch eine enorme Zeitersparnis erzielt werden konnte. Nach noch nicht einmal einem Jahr Entwicklungszeit lag somit eine 45  $\mu\text{m}$  dünne selbst produzierte amphotere Hydrogel-Kompositmembran mit exakter IEP Einstellung vor.

### 5.3.5 Ermittlung der effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten

Zunächst werden die effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten der modifizierten Sartorius 5 kDa Membran dargestellt. Diese besitzen zwar eine amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht an der Oberfläche, jedoch ist der IEP noch nicht optimiert.

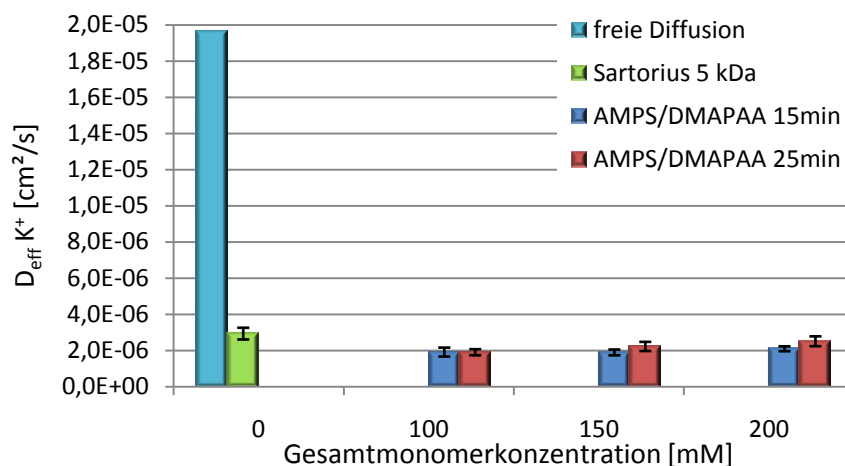


Abb. 5.19: Kaliumdiffusionskoeffizienten der modifizierten Sartorius 5 kDa Membranen.

Sämtliche Werte aus Abb. 5.19 repräsentieren den Mittelwert aus je drei Einzelmessungen, abgesehen vom Literaturwert der freien Kaliumdiffusion. Wie man deutlich erkennen kann, gibt es weder beim Vergleich der modifizierten Membranen untereinander noch mit der unmodifizierten Sartorius 5 kDa Membran signifikante Unterschiede bei der Kaliumdiffusion. Vergleicht man jedoch die erhaltenen Werte mit der freien Diffusion von Kalium, so ist die Diffusion durch die Membranen erwartungsgemäß um den Faktor 10 geringer.

In der nachfolgenden Abb. 5.20 ist der effektive Kaliumdiffusionskoeffizient durch die optimierte, selbst produzierte amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembran dargestellt. Der Zahlenwert der unmodifizierten Basismembran entspricht dem Mittelwert aus Tab. 5.5.

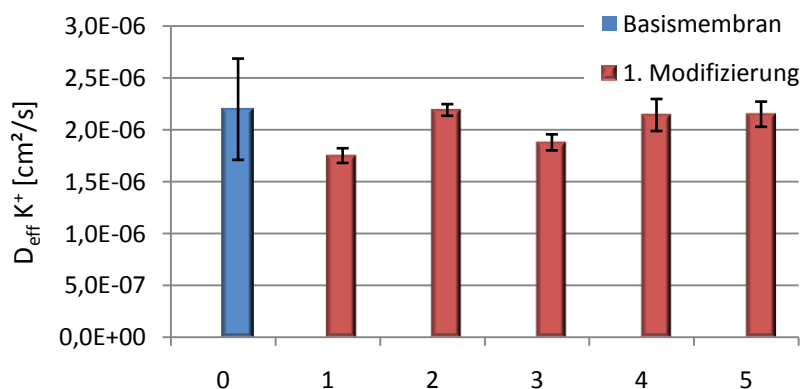


Abb. 5.20: Effektiver Kaliumdiffusionskoeffizient der optimierten, selbst produzierten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembran.

Die dargestellten effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten der fünf modifizierten selbst produzierten Kompositmembranen weichen mit Ausnahme von Probe 1 nicht negativ von dem Wert der unmodifizierten Basismembran ab. Betrachtet man jedoch auch die Überlappung der Fehlerbalken von Probe 1 und der unmodifizierten Membran, so kann dennoch festgehalten werden, dass auch diese Werte nicht unterschieden werden können. Positiv zu bewerten ist die Tatsache, dass sämtliche modifizierten Membranen geringere Fehlerbalken besitzen und die vorhandenen tolerierbaren leichten Inhomogenitäten der Basismembran durch die nachträgliche Modifizierung zum Teil überkompensiert wird.

Die bis jetzt präsentierten Kalium Diffusionsexperimente wurden mit einer 10 mM KCl Lösung auf der Feedseite durchgeführt, welche einen pH-Wert von 6 besitzt. Um nun den positiven Effekt der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht zu erfassen, wurden pH-Wert abhängige Diffusionsexperimente durchgeführt. Die erhaltenen Resultate sind in Abb. 5.21 aufgezeigt.

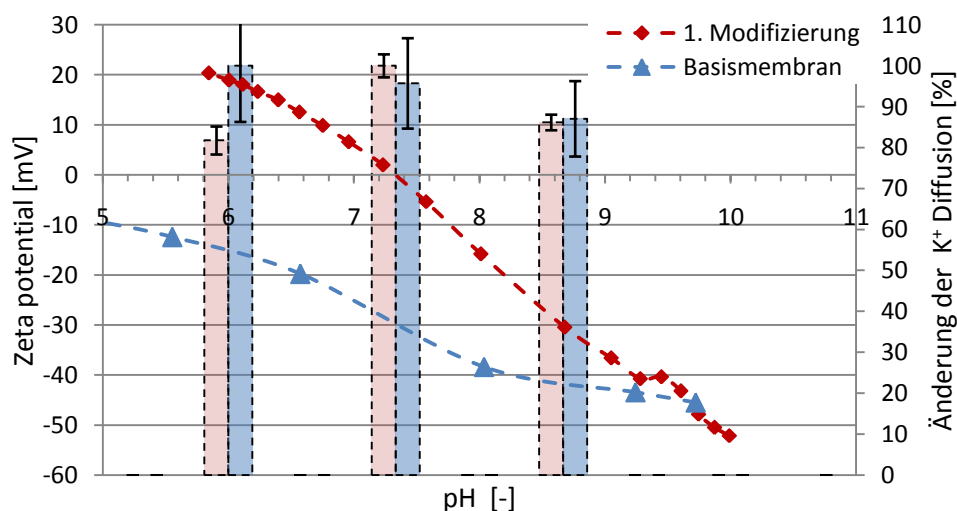


Abb. 5.21: Direkter Vergleich der Zetapotentialverläufe von unmodifizierten und modifizierten selbst produzierten PES Membranen mit der pH abhängigen Kaliumdiffusion.

Betrachtet man zunächst das Zetapotential der Basismembran, so nimmt die netto negative Oberflächenladung mit steigendem pH-Wert zu. Bei der pH abhängigen Kaliumdiffusion (pH 6; 7,4; 8,8) liegt der größte Diffusionskoeffizient bei pH 6 vor. Dieser Wert wurde auf 100 % gesetzt und die Diffusionskoeffizienten bei pH 7,4 und 8,8 in

Relation gesetzt. Dabei ergab sich eine Reduzierung der relativen Kaliumdiffusionskoeffizienten von 100 % auf 95 % und schließlich auf 87 %.

Wird die gleiche Prozedur mit amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembranen durchgeführt ergibt sich ein anderes Bild. In diesem Fall ist die Kaliumdiffusion bei einem pH Wert von 7,4 am größten (IEP, bzw. netto neutrale Oberflächenladung der Membran) und reduziert sich bei Erhöhung und Erniedrigung des pH-Wertes von 100 % auf 86 % bzw. 82 %. Bei pH 6 liegt eine netto positive und bei pH 8,8 eine netto negative Oberflächenladung vor, wodurch es zu repulsiven Wechselwirkungen zwischen der Membranoberfläche und den gelösten Ionen kommt. Daher reduziert sich der Kaliumdiffusionskoeffizient bei diesen beiden pH-Werten.

### 5.3.6 Vergleich von Kaliumfluss und Kaliumdiffusion zwischen Sartorius 5 kDa Membranen und selbst produzierten Membranen

Da die Sartorius 5 kDa Membran als Referenzmaterial genutzt wurde, erfolgte auch ein direkter Vergleich der selbst produzierten Membran mit diesem Referenzmaterial. In Abb. 5.22 sind sowohl die Kaliumdiffusionskoeffizienten als auch der Kaliumfluss durch unmodifizierte und modifizierte Sartorius 5 kDa und die selbst produzierte Membranen dargestellt.

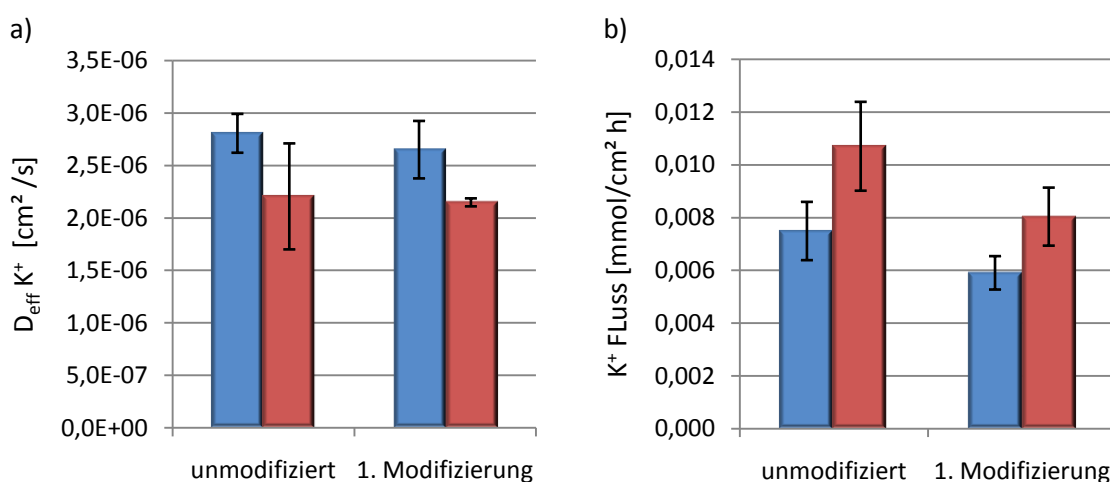


Abb. 5.22: Vergleich des Kaliumdiffusionskoeffizienten (a) und des Kalium Flusses (b) für unmodifizierte und modifizierte Sartorius 5 kDa Membranen (blau) und selbst produzierte Membran (rot).

Anhand der Daten aus Abb. 5.22 lässt sich gut erkennen, dass der Fluss der Kalium-Ionen durch die 45 µm dünnen, selbst produzierten PES Membranen mit und ohne Modifikation größer ist als durch die entsprechenden 125 µm dicken Sartorius Membranen. Dieses Ergebnis entspricht den Erwartungen und bestätigt erneut den Trend aus Abb. 5.6. (siehe Seite 77) Werden jedoch die Kaliumdiffusionskoeffizienten miteinander verglichen, kann der Vorteil des höheren Kaliumflusses der dünnen selbst produzierten Membranen nicht auf die Kaliumdiffusion übertragen werden. In diesem Fall sind die Werte niedriger als bei den entsprechenden Sartoriusmembranen. Ein Grund für dieses Ergebnis kann die größere Schichtdicke der trennaktiven Oberflächenschicht der selbst produzierten Membranen im Vergleich zu den Sartorius Membranen sein.

### 5.3.7 *Fouling*-Beständigkeit der amphoteren Ionenaustauscherschicht

Die Ergebnisse der *Fouling*-Experimente zur Überprüfung der besseren *Fouling*-Beständigkeit der modifizierten selbst produzierten Membranen sind in Abb. 5.23 illustriert.

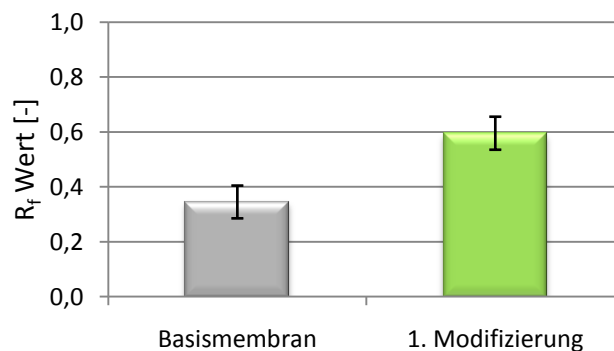


Abb. 5.23: *Fouling*-Beständigkeit für modifizierte und unmodifizierte selbst produzierte PES Membranen.

Die *Fouling*-Beständigkeit (basierend auf der hydraulischen Wasserpermeabilität) der selbst produzierten Membran hat sich durch das Aufbringen der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht nahezu verdoppelt. Somit weist die modifizierte Membran gleich zwei Vorteile gegenüber der unmodifizierten Basismembran auf: Zum Einen besitzt die modifizierte Membran bei pH 7,4 einen größeren Kaliumdiffusionskoeffizienten (vgl. dazu Abb. 5.21) und zum Anderen verbesserte *Anti-Fouling* Eigenschaften.

### 5.3.8 Quellgrad und Schichtdicke der amphoteren Ionenaustauscherschicht

Zur näheren Charakterisierung der gepfropften, amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht auf den selbst produzierten Membranen erfolgte eine Bestimmung der Schichtdicke im gequollenem, äquilibriertem Zustand. Zu diesem Zweck wurden zunächst Bulkhydrogele mit gleicher Zusammensetzung der beiden Monomere DMAPAA und AMPS entsprechend der Beschreibung aus Kap. 4.3.2 hergestellt. Um jedoch stabile Bulkhydrogele herzustellen, ist die Verwendung eines Vernetzers (hier *N,N*-Methylenbisacrylamid, MBAA) nötig. Der Anteil dieses Vernetzers wurde dabei zwischen 2,5 - 10 w/w% variiert. Die experimentell ermittelten Quellgrade (QG; Gl. 4.1, Seite 52) sowie die berechneten Maschenweiten (MW; Gl. 4.5, Seite 53) sind in Tab. 5.6 aufgelistet.

Tab. 5.6: Quellgrad und Maschenweite der Referenz Bulkhydrogele.

| QG     | (-)              |           |        |
|--------|------------------|-----------|--------|
| % MBAA | H <sub>2</sub> O | 10 mM KCl | Tyrode |
| 2,5    | 11,34            | 12,58     | 14,41  |
| 5      | 9,30             | 9,50      | 11,38  |
| 7,5    | 5,37             | 5,35      | 5,86   |
| 10     | 4,64             | 4,54      | 5,04   |
| MW     | (nm)             |           |        |
| % MBAA | H <sub>2</sub> O | 10 mM KCl | Tyrode |
| 2,5    | 11,83            | 12,25     | 12,82  |
| 5      | 7,93             | 7,99      | 8,05   |
| 7,5    | 5,46             | 5,45      | 5,62   |
| 10     | 4,55             | 4,52      | 4,68   |

Die Quellungsmessungen erfolgten dabei in Milli-Q®-Wasser, 10 mM KCl (Feedlösung bei Diffusionsexperimenten) sowie in Tyrode-Lösung. Diese Lösung (benannt nach dem amerikanischen Pharmakologen MAURICE VEJUX TYRODE) beinhaltet alle im humanen Blut vorkommenden Elektrolyte in entsprechender Konzentration. Anhand der Daten aus Tab. 5.6 wird die deutliche Steigerung der Quellung und die damit einhergehende Vergrößerung der Maschenweite mit steigender Salzkonzentration offensichtlich. Dieses Verhalten kann dabei mit dem auftretenden anti-Polyelektrolyteffekt begründet werden. Mit steigendem Vernetzungsgrad nimmt die Quellung der Bulkhydrogele

erwartungsgemäß ab, wobei auch der Einfluss des anti-Polyelektrolyteffektes immer geringer wird.

Die Messung der Schichtdicke der gegrafteten, amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht erfolgte anschließend auf modifizierten Si-Wafern mit Hilfe der Ellipsometrie. Um die Quellungsmessungen mit den Ergebnissen der Ellipsometrie vergleichen zu können, erfolgte die Modifizierung der Si-Wafer wie in Kap. 4.4.3.5 angegeben unter Verwendung von 2,5 w/w% MBAA. Die Abb. 5.24 beinhaltet die gemessenen Schichtdicken.

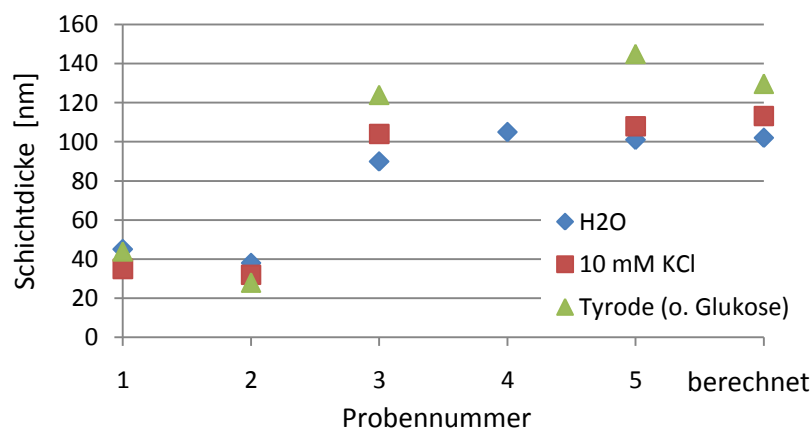


Abb. 5.24: Gemessene Schichtdicke der gegrafteten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht auf PES gecoateten Si-Wafern mit Hilfe der Ellipsometrie.

Die Proben mit den Nummern 1 und 2 verfügten über eine optisch sichtbare inhomogene PES Schicht, was dazu geführt haben kann, dass ein evtl. unvollständiges *grafting* erfolgte, wodurch auch die gemessenen Schichtdicken der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht von den restlichen Proben abweichen.

Der auftretende anti-Polyelektrolyteffekt konnte auch experimentell mit Hilfe der Ellipsometrie nachgewiesen werden, da die übrigen drei Proben (Nr. 3 - 5) eine größere Schichtdicke mit steigender Salzkonzentration vorwiesen. Die gemessenen Schichtdicken der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht betrugen in Wasser demnach ~ 100 nm und sind auf ~ 120 - 140 nm bei der Verwendung von Tyrode-Lösung angestiegen.



Überaus interessant ist dabei die Tatsache, dass die experimentell ermittelten Schichtdicken sehr gut mit den berechneten Schichtdicken übereinstimmen. Die Berechnung dieser (theoretischen) Schichtdicken erfolgte durch eine Ellipsometriemessung einer trockenen Probe (gemessene Schichtdicke  $\sim 9$  nm) mit anschließender Multiplikation der Quellgrade der Bulkhydrogele aus der ersten Zeile in Tab. 5.6. (siehe Seite 96). Dabei muss angemerkt werden, dass bei der Ermittlung der Quellgrade der Bulkhydrogele die Quellung in allen drei Raumrichtungen erfolgt, während die gepfropfte Hydrogelschicht auf dem Si-Wafer nur eine gerichtete, zweidimensionale Quellung erfährt.

### 5.3.9 Größenausschlussgrenze

Zur abschließenden Untersuchung der optimierten, modifizierten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembranen mit einem IEP von 7,4 erfolgte die Bestimmung der Größenausschlussgrenze und der Vergleich mit der unmodifizierten Basismembran.

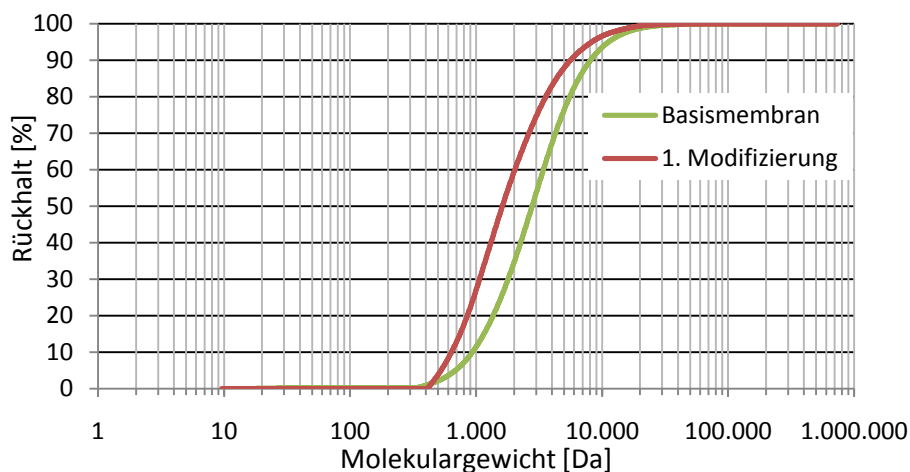


Abb. 5.25: *Cut-Off* Werte der unmodifizierten und modifizierten Basismembran.

In Abb. 5.25 ist der deutlich reduzierte *Cut-Off* der modifizierten Membran verglichen mit der Basismembran ablesbar. Diese Reduktion der Größenausschlussgrenze von 8,1 kDa auf 5,6 kDa stimmt mit den Erwartungen überein und lässt sich auf die Hydrogel-

Oberflächenbeschichtung mit einhergehender reduzierter Porengröße zurückführen. Somit entspricht die modifizierte Basismembran sehr gut den Zielvorgaben.

## 5.4 Zweite Membranmodifizierung mit zusätzlicher *Anti-Fouling*-Beschichtung

### 5.4.1 Wahl des Photoinitiators

Die bisher entwickelten modifizierten Basismembranen erfüllen sehr gut die Zielvorgaben, jedoch sind die *Anti-Fouling* Eigenschaften der amphoteren Membranoberflächenbeschichtung weiter optimierbar. Aus diesem Grund erfolgte eine zweite Oberflächenbeschichtung auf der bereits vorhandenen ersten amphoteren Beschichtung entsprechend dem Konzept aus Kap. 3. Damit das zwitterionische *p*SPP auf der ersten Beschichtung und nicht direkt auf der Membranoberfläche gegrattet wird, erfolgte die UV-Modifizierung mit Hilfe eines Photoinitiators (PI). Der PI muss dabei von einer Wellenlänge angeregt werden, die außerhalb des Absorptionsbereiches von PES liegt. Dazu wurde in einem ersten Schritt das UV-Absorptionsspektrum der zur Verfügung stehenden Photoinitiatoren gemessen.

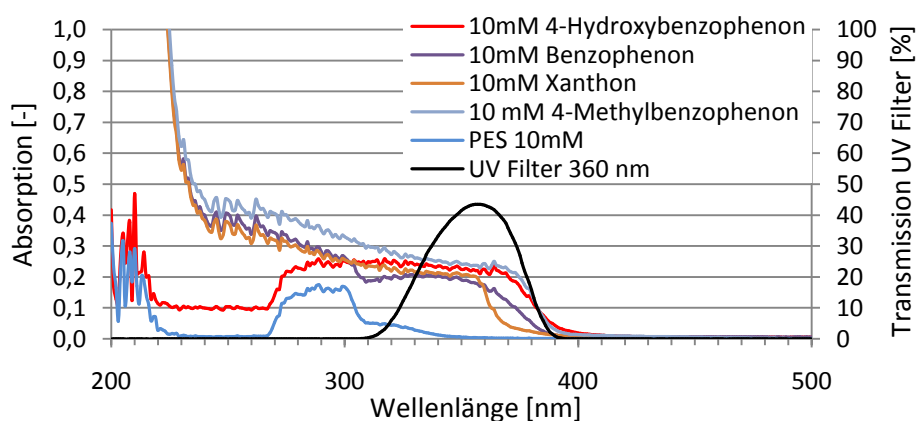


Abb. 5.26: UV-Absorptionsspektren diverser Photoinitiatoren und UV Transmissionsspektrum des UV Filters.

Anhand der gemessenen UV-Absorptionsspektren und dem überlagerten Transmissionspektrum eines speziellen UV-Bandpassfilters wurde 4-Hydroxybenzophenon als

Photoinitiator ausgewählt. Weitere Punkte, die zur Auswahl führten, waren der niedrigere Preis sowie die geringfügig bessere Wasserlöslichkeit gegenüber 4-Methylbenzophenon.

#### 5.4.2 Einstellung der Pfropfungsbedingungen

Damit die zweite Modifizierungsschicht auf der Oberfläche der amphoteren Hydrogelschicht gegrftet wird, wurden die Pfropfungsbedingungen so gewählt, dass die amphotere Hydrogelschicht möglichst kollabiert vorlag, um ein *grafting* innerhalb dieser Schicht zu vermeiden. Aus diesem Grund wurden Bulkhydrogele mit identischer Zusammensetzung wie die amphotere Hydrogelschicht synthetisiert und der Quellgrad in unterschiedlichen Wasser/Acetonitril Mischungen getestet. Die Verwendung von Acetonitril war nötig um die gewünschten Mengen des Photoinitiators zu lösen sowie ein Entquellen der amphoteren Hydrogelschicht herbeizuführen. Darüber hinaus ist das Basismembranpolymer Polyethersulfon in Acetonitril nicht löslich. In der folgenden Abb. 5.27 sind die Quellgrade der Bulkhydrogele in unterschiedlichen Wasser/Acetonitril Gemischen dargestellt.

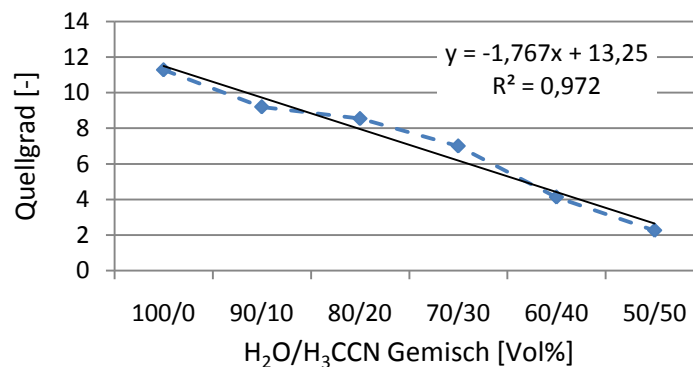


Abb. 5.27: Abhängigkeit des Quellgrades von dem Wasser/Acetonitril Mischungsverhältnis.

Mit steigendem Acetonitrilgehalt nimmt der Quellgrad der Bulkhydrogele annähernd linear ab. Dies ist auf die stetig verminderte Möglichkeit zum Ausbilden von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Polymerketten und den Lösungsmittelmolekülen zurückzuführen. Anhand der Daten aus Abb. 5.27 wurde eine Mischung von 50/50 Vol% als Lösungsmittel während des *Grafting*prozesses ausgewählt. Auf eine weitere Erhöhung des Acetonitrilgehaltes zur weiteren Entquellung der amphoteren

Hydrogelschicht wurde aufgrund der thermischen Wärmeentwicklung während des UV-*Grafting*prozesses verzichtet, um Verdunstungseffekte des Lösungsmittels zu vermeiden.

### 5.4.3 Funktionalisierungsgrad

Die zweite Beschichtung der selbst präparierten Basismembran erfolgte entsprechend der Beschreibung in Kap. 4.2.2. Dabei wurden insgesamt drei verschiedene PI-Konzentrationen (1; 5; 10 mM) mit je zwei Belichtungszeiten (15; 25 min) getestet. Die gravimetrisch ermittelten DG-Werte dieser 6 verschiedenen Modifizierungen sind in Abb. 5.28 dargestellt.

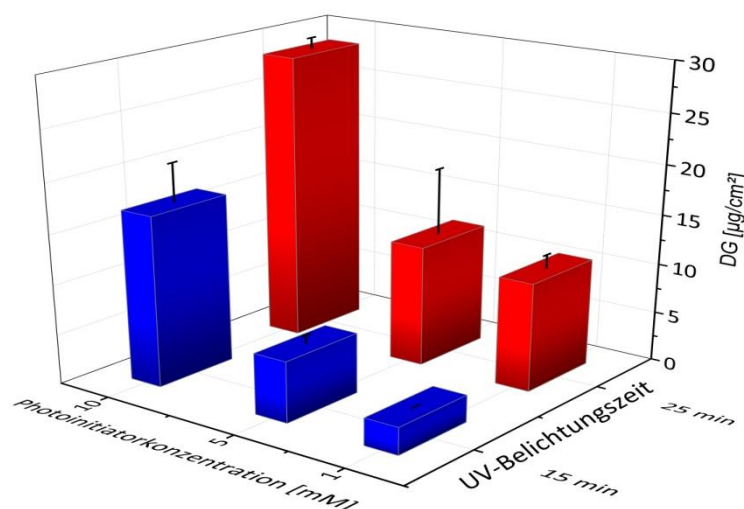


Abb. 5.28: DG-Werte der 6 verschiedenen *pSPP* Membranmodifizierungen.

Der DG-Wert der *pSPP* Beschichtung nimmt dabei entsprechend Abb. 5.28 sowohl mit steigender PI-Konzentration als auch mit steigender Belichtungszeit zu. Dadurch ergibt sich ein Maximum dieser Testreihe bei 10 mM PI-Konzentration und einer Belichtungszeit von 25 min. Dabei spiegelt dieser Trend die Erwartungen wieder. Mit steigender PI-Konzentration können mehr Radikale gebildet werden, wodurch bei einer längeren Belichtungszeit gleichzeitig mehr Polymerketten gebildet werden können.

#### 5.4.4 Kontaktwinkelmessung

Zur Untersuchung des Einflusses der zweiten Oberflächenbeschichtung auf die Hydrophilie der Membranoberfläche wurden erneut Kontaktwinkelmessungen durchgeführt.

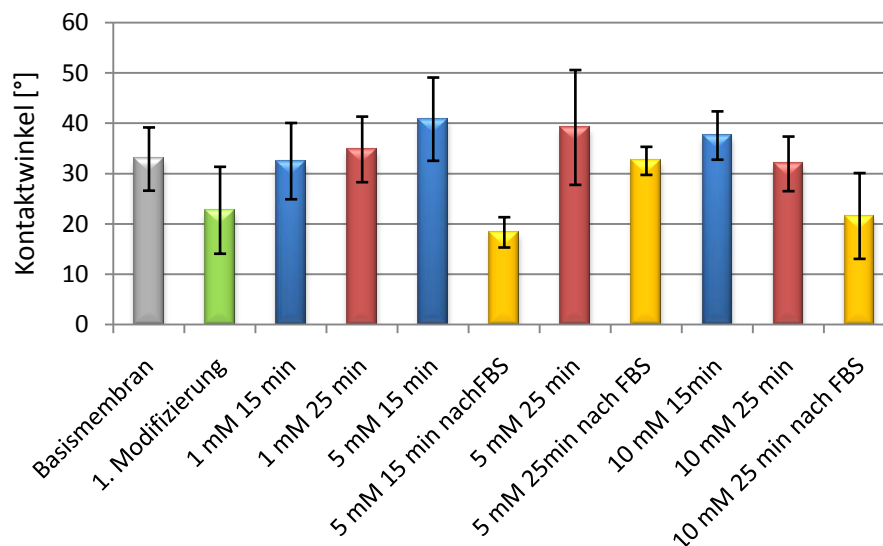


Abb. 5.29: Kontaktwinkel (*captive bubble mode*) der zweifach modifizierten Basismembran.

Der Kontaktwinkel der zweifach modifizierten Basismembranen nimmt zunächst mit steigendem DG-Wert zu, wobei ein Maximum bei 5 mM PI-Konzentration und einer Belichtungszeit von 15 min erreicht wird. Die weitere Steigerung der PI-Konzentration auf 10 mM führt dann wiederum zu einer Erniedrigung des Kontaktwinkels, wobei der Wert der einfach modifizierten Basismembran nicht unterschritten wird.

Auffällig ist ein verminderter Kontaktwinkel der modifizierten Membranen nach Beendigung von FBS-*Fouling*-Experimenten (dargestellt mit den gelben Säulen in Abb. 5.29). Eine mögliche Erklärung der verbesserten Hydrophilie der gefoulten Kompositmembranen beruht auf der Hypothese, dass die in der FBS-Lösung enthaltenen amphiphilen Proteine mit dem hydrophoben Teil an die Membran adsorbieren, während der hydrophile Teil nach außen zeigt. Dadurch ergibt sich eine nach außen hydrophilere Membranoberfläche.

### 5.4.5 Zetapotentialmessung

Mit Hilfe von Zetapotentialmessungen wurden die 6 verschiedenen 3-Schichtkompositmembranen in Bezug auf die elektrochemischen Oberflächeneigenschaften analysiert.

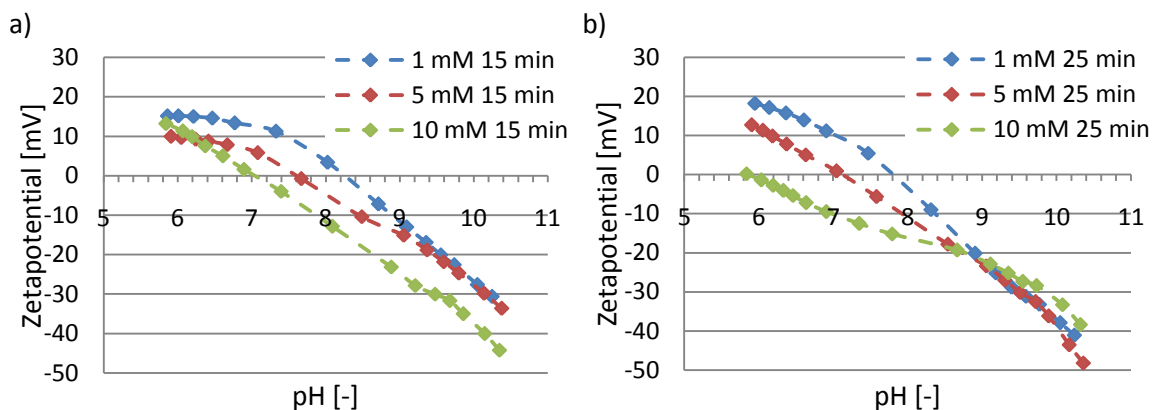


Abb. 5.30: Übersicht der Zetapotentialverläufe der zweifach modifizierten selbst präparierten Kompositmembranen. a) 15 min. Belichtungszeit; b) 25 min. Belichtungszeit.

Die Zetapotentialverläufe aller 6 Membranen zeigen den einheitlichen Trend, dass der IEP mit steigender PI-Konzentration und mit steigender Belichtungszeit zu immer niedrigeren pH-Werten driftet und somit dem Anstieg der DG-Werte der zweiten Modifizierungsschicht entspricht.

Um zu klären, ob eine teilweise oder vollständige Bedeckung der amphoteren Hydrogelschicht durch die zwitterionische *p*SPP-Schicht vorliegt, wurde ein Referenzsystem aufgebaut, bei welchem reines *p*SPP auf der selbst produzierten Basismembran gegrattet wurde. Im Anschluss erfolgten Zetapotentialmessungen der Referenzmembran sowie der einfach und zweifach modifizierten Basismembran (10 mM PI, 25 min). Dabei wurden Messungen sowohl mit 5 mM KCl als auch mit 5 mM KClO<sub>4</sub> – Lösung durchgeführt.

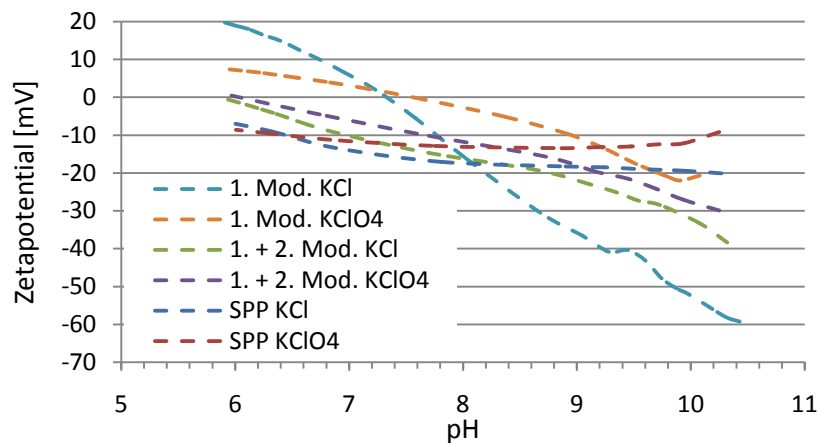


Abb. 5.31: Zetapotentialverlauf der Referenzmembran sowie der einfach und zweifach modifizierten Basismembran bei der Messung mit KCl und KClO<sub>4</sub>.

Das Zetapotential der Referenzmembran verläuft bei beiden Messungen annähernd horizontal und ist über den gesamten Messbereich netto negativ. Dem gegenüber besitzen die übrigen vier Membranen einen isoelektrischen Punkt im gemessenen pH-Bereich, wobei die Steigung des Potentials bei den Messungen mit KClO<sub>4</sub> geringer ist als bei den Messungen mit KCl. Aus den unterschiedlichen Zetapotentialverläufen der Referenzmembran und der zweifach modifizierten Basismembran kann man schließen, dass bei keiner der zweifach modifizierten Membranen eine vollständige *p*SPP Bedeckung der amphoteren Schicht vorliegt.

#### 5.4.6 Ermittlung der effektiven Diffusionskoeffizienten

Der effektive Kaliumdiffusionskoeffizient wurde für alle 6 Variationen der zweifach modifizierten Membranen vor und nach FBS-*Fouling*-Experimenten bestimmt und mit den vorherigen Entwicklungsstufen verglichen.

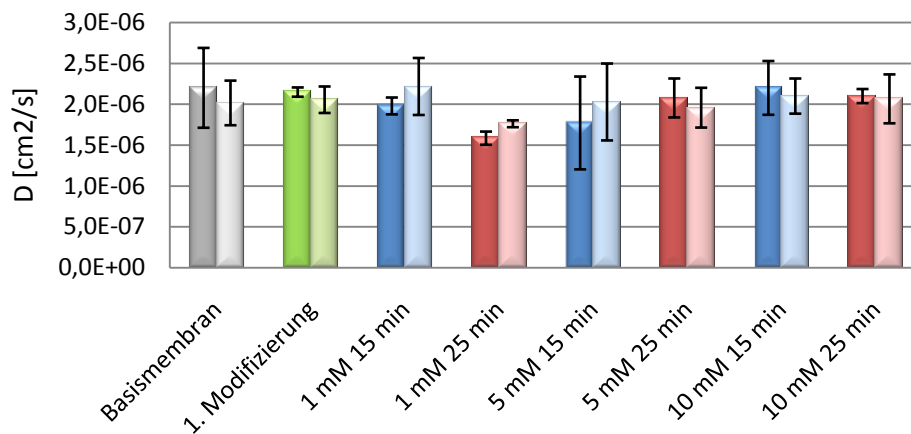


Abb. 5.32: Effektiver Kaliumdiffusionskoeffizient der zweifach modifizierten Membranen vor (dunklere Säulen) und nach (hellere Säulen) FBS-Fouling.

Bei der Gegenüberstellung der Diffusionskoeffizienten vor FBS-Fouling gibt es mit Ausnahme der Probe mit einer PI-Konzentration von 1 mM und 25 min Belichtungszeit keine signifikanten Unterschiede zwischen den modifizierten und unmodifizierten Membranen. Dies ist gleichbedeutend mit der Tatsache, dass keine signifikante Hinderung der Kaliumdiffusion durch die zweifache Hydrogelstruktur existiert.

Es soll an dieser Stelle noch einmal darauf hingewiesen werden, dass die Kaliumdiffusionsexperimente mit einer 10 mM KCl-Lösung (pH 6) erfolgten damit eine einfache Detektion via Konduktometrie möglich war.

Die Kaliumdiffusionskoeffizienten der Membranen zeigen nach FBS-Fouling zum Teil erhöhte Werte im Vergleich zur gleichen, ungefoulten Probe. Dies ist bei den Proben „1 mM PI, 15 bzw. 25 min Belichtungszeit“ sowie bei „5 mM 15 min“ der Fall. Dieser unerwartete Verlauf kann mit einer erhöhten Hydrophilie der Membranen nach dem FBS-Fouling erklärt werden (vgl. dazu Kontaktwinkelmessungen in Abb. 5.29, Seite 102). Entgegen dieser Annahme steht die Tatsache, dass die Kaliumdiffusion nicht bei allen Variationen der zweifach modifizierten Kompositmembranen nach dem FBS-Fouling erhöht ist.



#### 5.4.7 Fouling-Beständigkeit der Anti-Fouling Beschichtung

Wie in Kap. 5.4.6 bereits angedeutet wurde die *Fouling*-Beständigkeit der zweifach modifizierten Kompositmembranen mit Hilfe der hydraulischen Wasserpermeabilität vor/nach FBS-*Fouling* ermittelt. Abb. 5.33 beinhaltet die erzielten Ergebnisse.

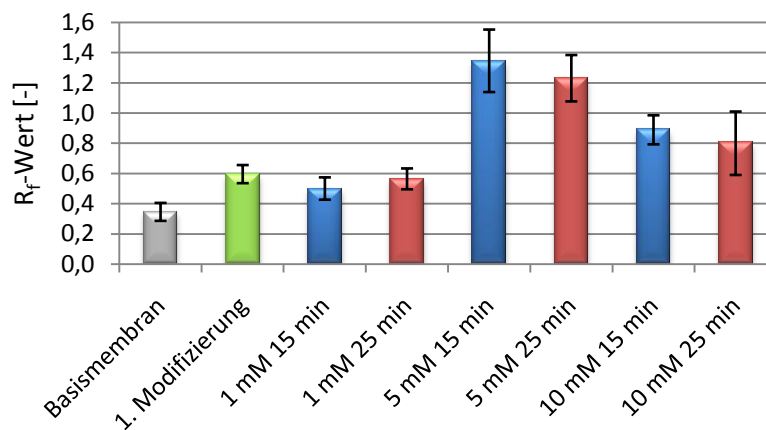


Abb. 5.33: *Fouling*-Beständigkeit der zweifach modifizierten Kompositmembranen.

Anhand der Daten aus Abb. 5.33 ist der deutliche Anstieg der *Fouling*-Beständigkeit der zweifach modifizierten Kompositmembranen gegenüber der einfach modifizierten Membran ablesbar. Es zeigen sich weiterhin zwei wesentliche Trends. Primär wird eine Abhängigkeit von der Photoinitiatorkonzentration deutlich. Bei Verwendung von höheren Konzentrationen ergeben sich deutlich größere R<sub>f</sub>-Werte. Sekundär zeigen sich bei den Membranen mit der gleichen Photoinitiatorkonzentration hingegen nur sehr geringe Unterschiede bei Variation der UV-Belichtungszeit. Im Fall der Membranen, welche unter Verwendung einer PI-Konzentration von 5 mM mit *pSPP* beschichtet wurden, nimmt die *Fouling*-Beständigkeit sogar Werte über 1 (100 %) an. Dies ist auf eine erhöhte Wasserpermeabilität aufgrund erhöhter Hydrophilie (vgl. dazu Abb. 5.29, Seite 102) nach dem FBS-*Fouling* zurückzuführen.

Auf Grundlage der Daten der *Fouling*-Beständigkeit, Kaliumdiffusionskoeffizienten und Zetapotentialmessungen wurde die Membran, die unter Verwendung einer PI-Konzentration von 10 mM und einer Belichtungszeit von 15 min mit *pSPP* beschichtet wurde, als Membran für zukünftige Experimente ausgewählt. Mit dieser Membran

erfolgte auch eine Diffusionsmessung mit FBS, um zu klären, ob die enthaltenen Proteine durch die zweifach modifizierte Kompositmembran diffundieren können. Dazu wurde eine Diffusionsmessung für 24 h durchgeführt und anschließend die UV- Absorption bei 412 nm der Permeat/Feedlösung bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tab. 5.7 zusammengefasst:

Tab. 5.7: UV-Absorption der Permeat/Feedlösung nach FBS Diffusion.

| Probe:           | Konzentration [g/100ml] | Absorption [-] |
|------------------|-------------------------|----------------|
| Reines FBS       | 4,660                   | 1,752          |
| Basismembran     |                         |                |
| Permeat          | 0,007                   | 0,006          |
| Feed             | 4,398                   | 1,656          |
| 2. Modifizierung |                         |                |
| Permeat          | 0,003                   | 0,004          |
| Feed             | 4,613                   | 1,737          |

Aus den Messwerten in Tab. 5.7 wird deutlich, dass nach 24 h nur ein geringer Anstieg der Konzentration von den Bestandteilen des FBS im Permeat erfolgte. Dieser Anstieg der Konzentration im Permeat kann dabei hauptsächlich auf die ebenfalls im FBS enthaltenen Elektrolyte, Zucker, Stoffwechselprodukte und Vitamine zurückgeführt werden. Eine mögliche Diffusion der enthaltenen Proteine ist jedoch nicht vollständig ausgeschlossen.

Dennoch werden die Anti-Fouling-Eigenschaften der modifizierten Membran ebenfalls durch dieses Experiment gezeigt. Die Stoffmengenkonzentration im Feed ist nach 24 h bei der modifizierten Membran deutlich höher als bei der Basismembran. Dies weist darauf hin, dass an der Basismembran deutlich mehr Stoffmenge adsorbiert ist als auf der ausgewählten zweifach modifizierten Membran. Durch die erhaltenen Messwerte der UV-Absorption (Tab. 5.7) kann darüber hinaus die adsorbierte Substanzmenge berechnet werden. Der effektiv gefoulte Teil der Membran hat einen Durchmesser  $d = 2 \text{ cm}$ . Bei der Verwendung der Basismembran wurden somit  $83,4 \text{ mg/cm}^2$  adsorbiert, während bei der Benutzung der modifizierten Membran nur  $14,9 \text{ mg/cm}^2$  adsorbiert wurden. Dadurch wird die verbesserte *Anti-Fouling* Eigenschaft der modifizierten Membran deutlich gezeigt.

#### 5.4.8 Größenausschlussgrenze

Die Größenausschlussgrenze der zweifach modifizierten Kompositmembran (10 mM PI, 15 min Belichtungszeit) ist zusammen mit der einfach modifizierten Membran und der Basismembran in Abb. 5.34 dargestellt.

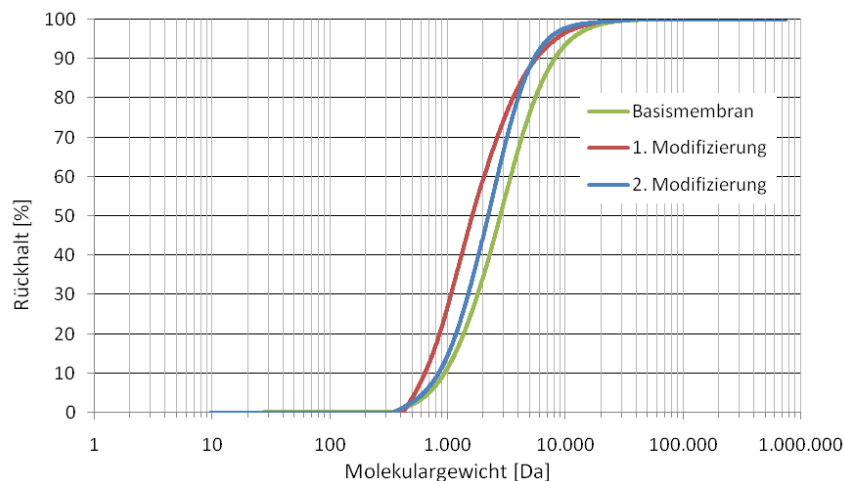


Abb. 5.34: Größenausschlussgrenze der drei verschiedenen Membranentwicklungsstufen.

Der *Cut-Off* der zweifach modifizierten Membran unterscheidet sich nur unwesentlich von der einfach modifizierten Membran (Reduktion von 5,6 kDa auf 5,4 kDa), jedoch ist die Steigung der Siebkurve größer, sodass eine gesteigerte Selektivität zugrunde liegt.

Abschließend lässt sich festhalten, dass die zweifache Membranmodifizierung als Erfolg gewertet werden kann, da sowohl der *Cut-Off* als auch die *Fouling*-Beständigkeit verbesserte Werte vorweisen bei gleichzeitig gleichbleibender Kaliumdiffusion.

#### 5.4.9 Rasterkraftmikroskopie

Zur näheren Untersuchung der Oberflächentopographie wurden AFM-Aufnahmen der drei Membranentwicklungsstufen sowie der Sartorius 5 kDa Membran im trockenen Zustand angefertigt. Diese sind in Abb. 5.35 dargestellt.

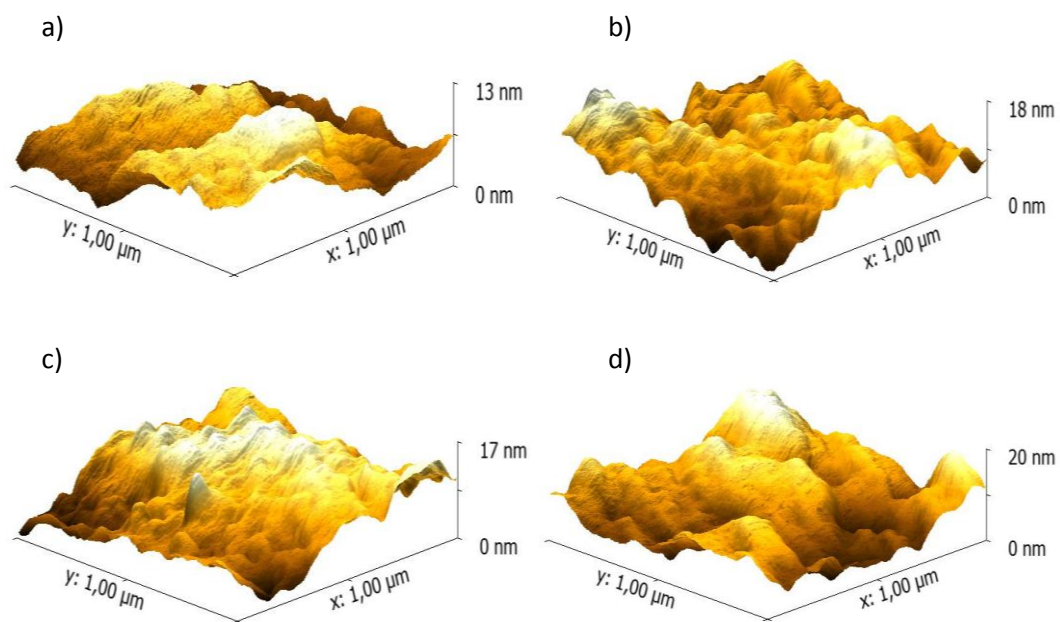


Abb. 5.35: AFM Aufnahmen der Sartorius 5 kDa Membran sowie der drei verschiedenen Membranentwicklungsstufen. a) Sartorius 5 kDa; b) Basismembran; c) 1. Modifizierung; d) 2. Modifizierung.

Parallel dazu sind die ermittelten Oberflächenrauigkeiten der vier verschiedenen Membranen in Tabelle 5.8 aufgelistet.

Tab. 5.8: Oberflächenrauigkeiten der vier verschiedenen Membranen.

| Membran          | Rauigkeit [nm] |
|------------------|----------------|
| Sartorius 5 kDa  | 3              |
| Basismembran     | 4              |
| 1. Modifizierung | 7              |
| 2. Modifizierung | 10             |

Die Membranoberflächentopographie der vier vermessenen Membrantypen zeigte keine signifikanten Unterschiede im trockenen Zustand der Membranen, wenngleich die Oberflächenrauigkeit der Sartorius 5 kDa geringfügig niedriger war als bei den übrigen drei Membranproben.

## 5.5 Kombinierte Diffusionsmessungen

### 5.5.1 Kombinierte Diffusionsmessungen mit repräsentativen Blutbestandteilen

Um die Selektivität der präparierten Kompositmembranen nicht nur im Bezug auf den Dextranrückhalt erfassen zu können, wurden kombinierte Diffusionsmessungen mit repräsentativen Blutbestandteilen durchgeführt. Die Auswahl der Testsubstanzen orientiert sich dabei an den frühen Arbeiten von COLTON *et.al.*<sup>[122–126]</sup> und beinhaltet repräsentative Vertreter verschiedener im Blutkreislauf vorhandener Stoffklassen (Zucker, Stoffwechselprodukte, Vitamine etc.) welche in Tab. 5.9 aufgelistet sind.

Tab.5.9: Hydrodynamische Radien, Molmassen und Startgradienten repräsentativer Blutbestandteile.

| Substanz                | $r_H$<br>[nm]         | Molmasse<br>[g/mol] | Startgradient<br>[mmol/L] |
|-------------------------|-----------------------|---------------------|---------------------------|
| Kalium                  | 0,33*                 | 39,09               | 8,00                      |
| Harnstoff               | 0,18 <sup>[127]</sup> | 60,06               | 3,75                      |
| Kreatinin               | 0,26 <sup>[128]</sup> | 113,12              | 0,06                      |
| Glukose                 | 0,35 <sup>[129]</sup> | 180,16              | 2,75                      |
| Vitamin B <sub>12</sub> | 0,74 <sup>[130]</sup> | 1579,58             | 0,01                      |
| Inulin                  | 1,39 <sup>[131]</sup> | ~ 5000              | 0,02                      |

\*: Berechnet mit Hilfe der Stokes-Einstein-Gleichung. (Gl. 2.3, Seite 5)

Die Diffusionsexperimente erfolgten diesmal über einen Zeitraum von 24 h, wobei die Substanzen mit Hilfe eines HPLC-Systems voneinander getrennt und detektiert wurden. Die ermittelten effektiven Diffusionskoeffizienten sind in Abhängigkeit der Membranentwicklungsstufe in Abb. 5.36 dargestellt.

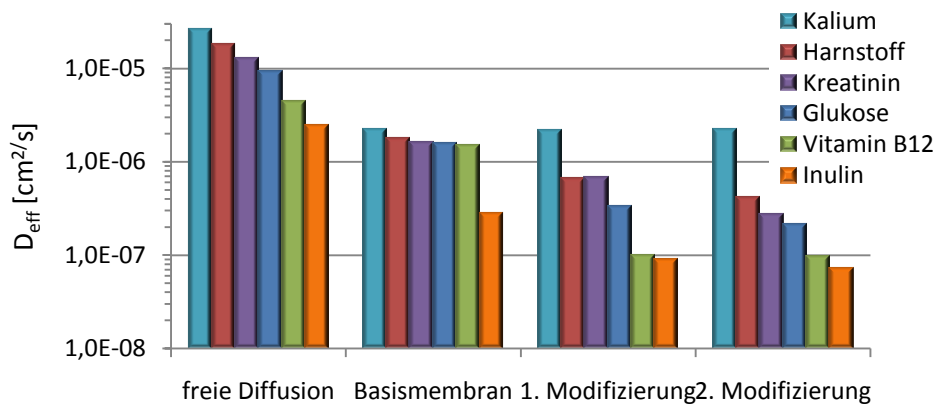


Abb. 5.36: Effektive Diffusionskoeffizienten repräsentativer Blutbestandteile für modifizierte und unmodifizierte Basismembranen. Anmerkung zu Abb. 5.36: Aufgrund des großen Wertebereiches und der damit gewählten logarithmischen Auftragung werden keine Fehlerbalken dargestellt.

Die Diffusionskoeffizienten der Blutbestandteile nehmen mit steigendem Modifizierungsgrad ab, wobei der Diffusionskoeffizient von Kalium keine signifikanten Unterschiede zeigt. Darüber hinaus nimmt der Diffusionskoeffizient der einzelnen Substanzen mit steigender Molmasse ab, was den Erwartungen und dem Verhalten der freien Diffusion dieser Substanzen entspricht. Durch diesen Vergleich kann geschlussfolgert werden, dass keine zusätzliche Querbeflussung der Substanzen untereinander vorhanden ist. Die jeweilige korrespondierende Selektivität (berechnet nur mit den Mittelwerten aus Abb. 5.36) der einzelnen Membranen ist in Abb. 5.37 dargestellt.

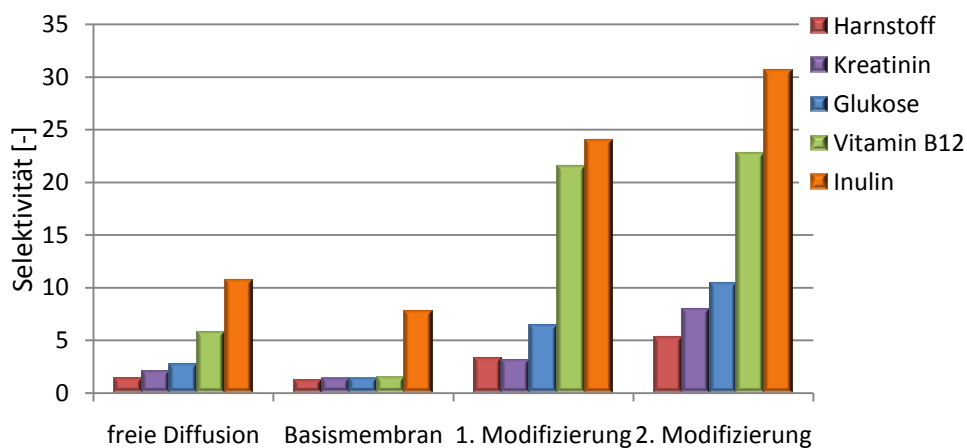


Abb. 5.37: Selektivität im Bezug auf Kalium basierend auf den Diffusionskoeffizienten der verschiedenen Membranentwicklungsstufen für repräsentative Blutbestandteile.

Bedingt durch die Tatsache, dass der Kaliumdiffusionskoeffizient bei allen drei Membrantypen fast identisch ist, die Diffusionskoeffizienten der übrigen Blutbestandteile jedoch mit steigendem Modifizierungsgrad abnehmen, nimmt die Selektivität dementsprechend mit steigendem Modifizierungsgrad zu. Die Selektivität nimmt für Inulin den jeweils größten Wert ein, wobei der Transport von Inulin auch durch Größenausschluss durch die Membran reduziert wird.

Betrachtet man als nächstes die vorhandenen Substanzflüsse, so ergibt sich eine andere Reihenfolge als bei den effektiven Diffusionskoeffizienten.

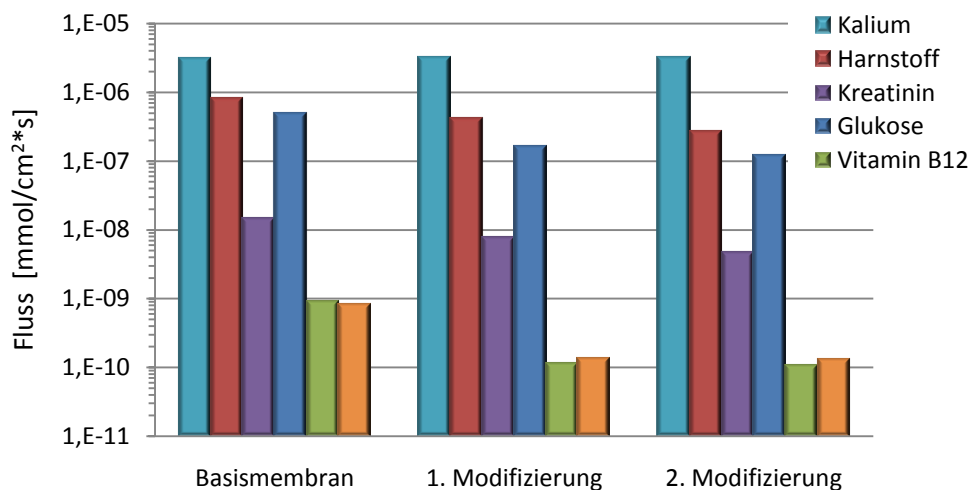


Abb. 5.38: Substanzflüsse repräsentativer Blutbestandteile für modifizierte und unmodifizierte Basismembranen. Anmerkung zu Abb. 5.38: Aufgrund des großen Wertebereiches und der dadurch gewählten logarithmischen Auftragung werden keine Fehlerbalken dargestellt.

Die Reihenfolge der Substanzflüsse in Abb. 5.38 folgt nun dem Trend der vorliegenden Konzentrationsgradienten (vgl. Tab. 5.7, Seite 107). Die verwendeten Gradienten sind dabei nicht identisch, sondern entsprechen den jeweiligen humanphysiologischen Blutkonzentrationen.

Werden erneut die Selektivitäten berechnet (nur mit den Mittelwerten aus Abb. 5.38, daher keine Fehlerbalken), ergibt sich auch hierbei die gleiche Reihenfolge.

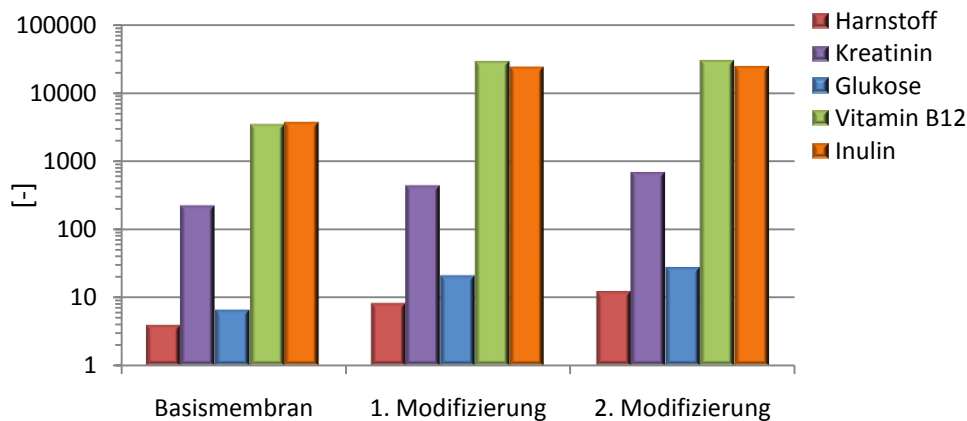


Abb. 5.39: Membranselektivität für Kalium basierend auf den Substanzflüssen.

Abgesehen von der unterschiedlichen Reihenfolge der beiden Selektivitäten (bezogen auf die Diffusion und auf den Fluss), sind die Absolutwerte ebenfalls unterschiedlich. Die größte Selektivität im Bezug auf die Diffusion ergibt sich für Inulin bei der zweifach modifizierten Membran ( $S = 31$ ), wohingegen die Selektivität in Bezug auf den Substanzfluss von Inulin fast 25.000 bei derselben Membran beträgt.

Dennoch ist festzuhalten, dass die getesteten Substanzen generell durch die modifizierten Kompositmembranen permeieren und somit in das Sensorinnere gelangen können. Aus diesem Grund erfolgte eine Quervernetzung der ersten amphoteren Hydrogelschicht mit MBAA, um die Selektivität der Kompositmembran noch weiter zu steigern. Dazu wurde eine Testreihe durchgeführt, bei welcher die MBAA Konzentration zwischen 0 und 10 w/w% variiert wurde.

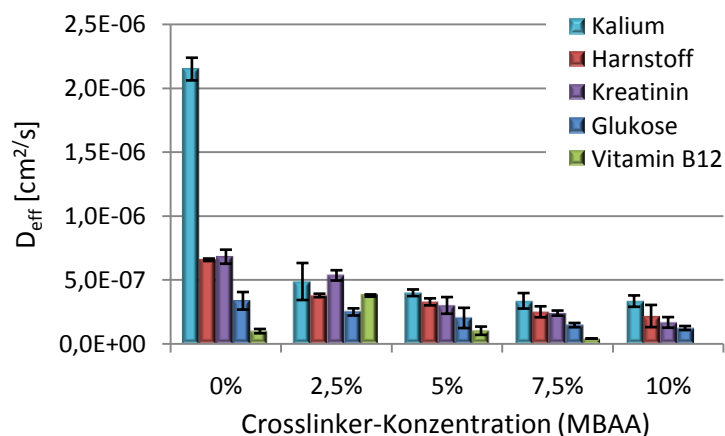


Abb. 5.40: Effektive Diffusionskoeffizienten in Abhängigkeit der Crosslinker-Konzentration.



Die Werte für 0 % Crosslinker entsprechen dabei den Werten für die „erste Modifizierung“ aus Abb. 5.36.

Mit Ausnahme von Vitamin B<sub>12</sub> bei einer Kompositmembran mit 2,5 w/w% MBAA nehmen alle Diffusionskoeffizienten einschließlich Kalium mit steigender Crosslinker-Konzentration kontinuierlich ab. Bei der Verwendung von 10 w/w% MBAA konnte darüber hinaus kein Vitamin B<sub>12</sub> im Permeat nachgewiesen werden. Die Reduktion der Kaliumdiffusion ist dabei an stärksten ausgeprägt, wenn erstmals ein Crosslinker (2,5 w/w%) eingesetzt wird. So verringert sich der Diffusionskoeffizient von  $2,15 \cdot 10^{-6}$  zu  $4,59 \cdot 10^{-7}$ , was einer Reduktion von ca. 78 % entspricht.

Der Verlauf der Kaliumdiffusion in Bezug zu der Crosslinker-Konzentration ist in Abb. 5.41 separat dargestellt.

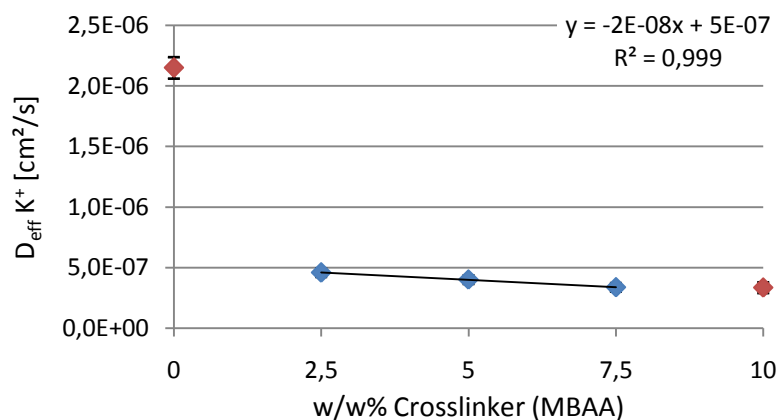


Abb. 5.41: Änderung des effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten mit Variation der Crosslinker-Konzentration.

Auffällig ist die stringente Verringerung der Kaliumdiffusionskoeffizienten in einem Bereich von 2,5 - 7,5 w/w% MBAA, sowie ein Abflachen bei weiterer Steigerung der Crosslinker-Konzentration auf 10 w/w% MBAA.

Korreliert man die Ergebnisse mit den ermittelten Maschenweiten von Referenz Bulkhydrogelen (Tab. 5.6, Seite 96) mit identischer Zusammensetzung wie die quervernetzte amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht, so ergibt sich entsprechend der Abb. 5.42 ein identischer Verlauf.

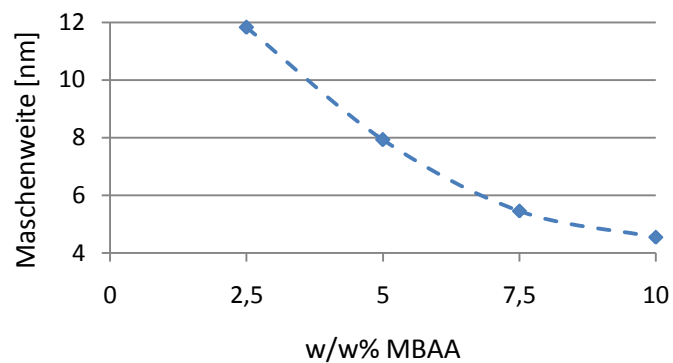


Abb. 5.42: Berechnete Maschenweite der Bulkhydrogelen mit identischer Zusammensetzung entsprechend der quervernetzten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht der Kompositmembranen.

Auch bei den berechneten Maschenweiten erfolgt ein Abflachen der Werte sobald die Crosslinker-Konzentration 7,5 w/w% überschreitet. Zum Schluss wird die Selektivität der quervernetzten Kompositmembranen auf Grundlage der effektiven Diffusionskoeffizienten aus Abb. 5.40 präsentiert.

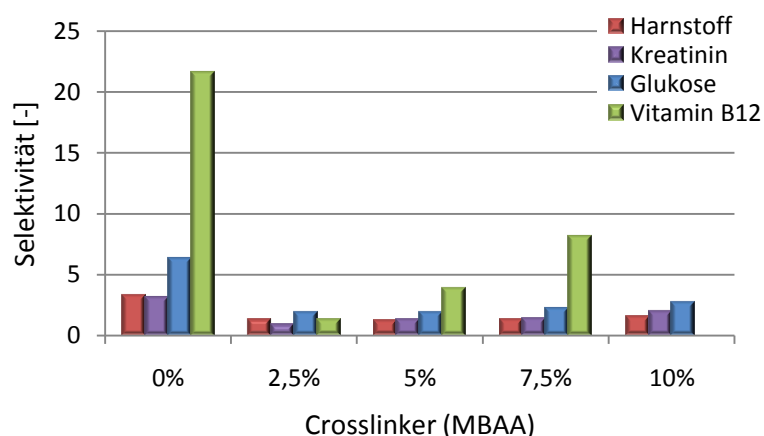


Abb. 5.43: Selektivität der quervernetzten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembranen in Bezug zur Crosslinker-Konzentration.

Anhand von Abb. 5.43 lässt sich sehr gut erkennen, dass die Selektivität der vernetzten Membranen durch den Einsatz des Crosslinkers MBAA reduziert wird und die Kaliumdiffusion ebenfalls vermindert wird (siehe Abb. 5.40, Seite 114). Innerhalb der Testreihe (2,5 – 10 w/w% Crosslinker) nimmt die Selektivität der Membranen für Kalium in Bezug zu Vitamin B<sub>12</sub> zwar zu, kann jedoch nicht den Wert der unvernetzten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembran erreichen.

Bedingt durch diese Tatsache ist die Verwendung eines Crosslinkers nicht zielführend sondern sogar kontraproduktiv, um die Selektivität der Membran für Kalium im Bezug zu den repräsentativen Blutbestandteilen zu erhöhen.

### 5.5.2 Kombinierte Kalium/Natrium Diffusion

Um zu überprüfen, ob es Quereinflüsse anderer im humanen Blutkreislauf vorhandener Salze auf die Kaliumdiffusion gibt, wurden kombinierte Kalium/Natrium Diffusionsexperimente durchgeführt. Natriumkationen kommen mit einem Konzentrationsbereich von ca. 125 - 145 mmol/L von allen Kationen am Häufigsten im humanen Blutkreislauf vor, weswegen dieses Kation ausgewählt wurde. Es erfolgten Kalium sowie Kalium/Natrium Diffusionsexperimente mit den drei verschiedenen Membranentwicklungsstufen (Basismembran, 1. Modifizierung, 2. Modifizierung), wobei immer mindestens 3 Membranen des gleichen Typs vermessen wurden. Die erzielten Ergebnisse sind in Abb. 5.44 aufgeführt.

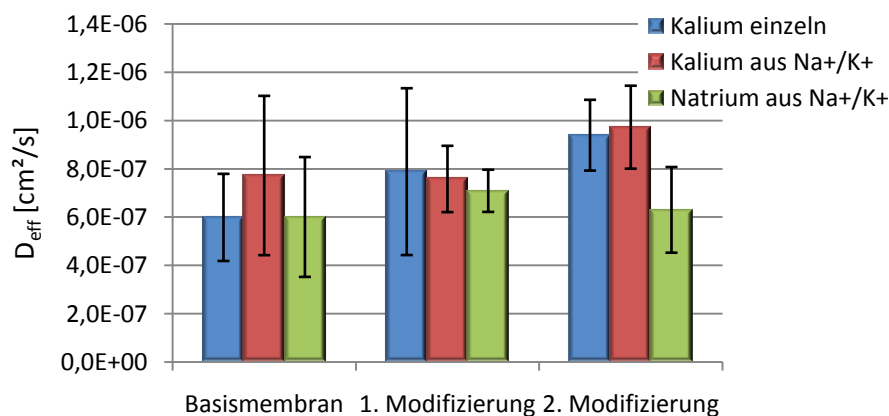


Abb. 5.44: Ermittelte Diffusionskoeffizienten für Kalium und Natrium aus kombinierten und einzelnen Diffusionsmessungen.

Auffällig ist, dass der effektive Kaliumdiffusionskoeffizient bei einer Kaliumeinzelmessung (blaue Säulen) mit steigendem Modifizierungsgrad zunimmt. Dieses Verhalten konnte zuvor noch nicht beobachtet werden. Berücksichtigt man aber die großen Fehlerbalken, so erkennt man, dass diese sich gegenseitig überlagern. Der größte ermittelte Kaliumdiffusionskoeffizient der Basismembran nimmt somit fast den gleichen Wert wie der kleinste ermittelte Diffusionskoeffizient der zweifach modifizierten

Kompositmembran an, wodurch diese Mittelwerte streng genommen nicht unterscheidbar sind. Selbiges gilt auch für den Kaliumdiffusionskoeffizienten der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  Mischung, wobei die angegebenen Mittelwerte bei der Basis- und der zweifach modifizierten Membran für Kalium aus der Mischung größer sind als bei der entsprechenden Einzelmessung. Man hätte jedoch erwarten können, dass der Kaliumdiffusionskoeffizient aus der Mischung bei den modifizierten Membranen größer ist als der Kaliumdiffusionskoeffizient aus der Einzelmessung, da mit steigender Salzkonzentration entsprechend Abb. 5.24 eine größere Quellung der Hydrogelschicht vorliegt. Dies ist jedoch nur bei der zweifach modifizierten Membran zu beobachten.

Die ermittelten Natrium-Diffusionskoeffizienten hingegen sind bei allen drei Membrantypen kleiner als die Kaliumdiffusionskoeffizienten aus der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  Mischung. Dies kann auf den größeren hydrodynamischen Durchmesser des Natriumkations zurückgeführt werden. Jedoch sind die Verhältnisse zwischen den  $\text{K}^+$ - und  $\text{Na}^+$ -Diffusionskoeffizienten für alle drei Membranen unterschiedlich.

Abschließend kann jedoch festgehalten werden, dass keine signifikante negative Beeinflussung der Natriumionen auf die Kaliumdiffusion experimentell ermittelt werden konnte.

## 5.6 Membranexperimente in Zusammenarbeit mit Kooperationspartnern

### 5.6.1 Membransterilisation

Da der *in vivo* Sensor vor der Implantation sterilisiert werden muss, muss auch die kaliumpermeable Barrieremembran sterilisierbar sein. Da zu Beginn des Kooperationsprojektes die Sterilisationsmethode noch nicht festgelegt war, erfolgten Sterilisationsexperimente bei dem Kooperationspartner mit einer Ethylenoxid (EO) Sterilisation (60 °C) sowie durch Autoklavierung (121 °C, 3 bar). Dabei wurden immer mindestens 3 Membranen sterilisiert und anschließend vermessen.

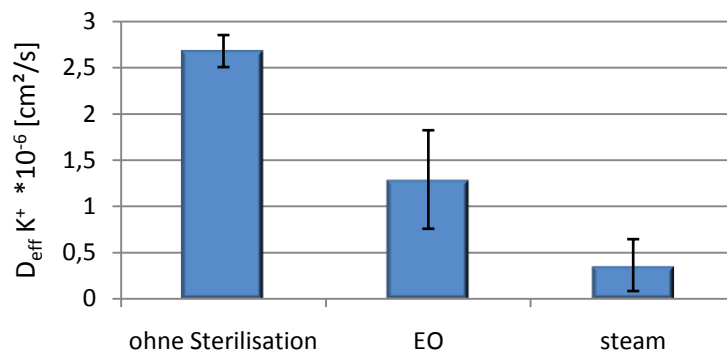


Abb. 5.45: Effektive Kaliumdiffusionskoeffizienten von sterilisierten und unsterilisierten Sartorius 5 kDa Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht.

Der effektive Kaliumdiffusionskoeffizient von autoklavierten Membranen ist um den Faktor 7,5 kleiner als durch unsterilisierte Membranen. Auch eine Ethylenoxid-Sterilisation führt dazu, dass der Diffusionskoeffizient etwa um den Faktor 2 geringer ist als für unsterilisierte Membranen. Der Grund für dieses Verhalten liegt in der Austrocknung der Membran während der Sterilisation. Dieser Austrocknungsprozess ist bei Autoklavierung anhand der Daten aus Abb. 5.45 stärker ausgeprägt als bei einer EO-Behandlung. Dafür spricht auch die doppelt so hohe Temperatur von 121 °C gegenüber 60 °C.

Um das Austrocknen der Membranen während der Sterilisation zu verhindern, erfolgte für die nächsten Experimente eine Konservierung der Membranen vor der Sterilisation mit Glycerin. Glycerin besitzt einen extrem niedrigen Dampfdruck von  $< 1 \times 10^{-3}$  mbar, wodurch die Poren während des gesamten Sterilisationsprozesses benetzt bleiben und die Membran somit nicht austrocknet. Darüber hinaus wurde im Laufe der Kooperation festgelegt, dass eine EO-Behandlung zur Sterilisation eingesetzt wird, da die Bedingungen während des Autoklavierprozesses für mehrere Sensorkomponenten nicht durchführbar waren.

Die folgende Abb. 5.46 beinhaltet die ermittelten Kaliumdiffusionskoeffizienten vor/nach EO-Sterilisation von 5 konservierten, selbst produzierten zweifach modifizierten Hydrogel-Kompositmembranen.

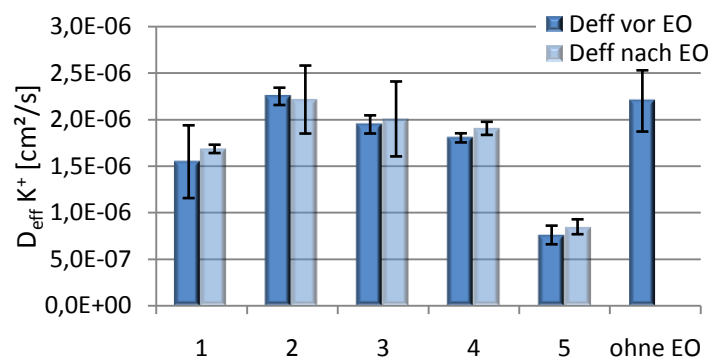


Abb. 5.46: Kaliumdiffusionskoeffizienten vor/nach EO-Sterilisation von 5 konservierten, selbst produzierten zweifach modifizierten Hydrogel-Kompositmembranen.

Entsprechend der Daten aus Abb. 5.46 bestätigt sich der positive Effekt der Glycerinkonservierung, da die ermittelten effektiven Diffusionskoeffizienten vor/nach EO Sterilisation nur unwesentlich von einander abweichen, bzw. unter Berücksichtigung der überlappenden Fehlerbalken kein Unterschied festzumachen ist. Es sei an dieser Stelle jedoch darauf hingewiesen, dass die Bestimmung des Diffusionskoeffizienten immer mit Membranen ohne Glycerin erfolgte und das Glycerin nach der EO-Sterilisation herausgewaschen wurde.

Um darüber hinaus zu untersuchen, ob die zweifache Hydrogel-Oberflächenmodifizierung auch nach der EO-Sterilisation intakt ist, wurde die *Fouling*-Beständigkeit dieser 5 Proben ermittelt und mit einer unsterilisierten Probe verglichen.

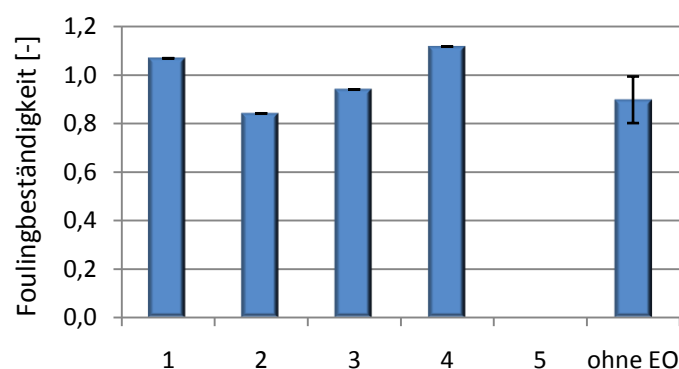


Abb. 5.47: *Fouling*-Beständigkeit von 5 EO-Sterilisierten, zweifach modifizierten Kompositmembranen.

Probe Nr. 5 wurde bei der Handhabung beschädigt, sodass keine Auswertung erfolgen konnte. Die *Fouling*-Beständigkeit der übrigen sterilisierten Membranen ist im Mittel

sogar geringfügig besser als die der unsterilisierten Referenzprobe. Des Weiteren sind die ermittelten Fehlerbalken viel geringer als der der Referenzprobe, wodurch die gute Reproduzierbarkeit bei der Bestimmung der *Fouling*-Beständigkeit zum Ausdruck kommt. Abschließend kann gesagt werden, dass die Hydrogelbeschichtung während der EO-Behandlung intakt und funktionsfähig geblieben ist.

Um final zu klären, ob das enthaltene Glycerin in den Membranen vor einer möglichen Implantation in einem zusätzlichen Arbeitsschritt herausgewaschen werden muss, erfolgten Diffusionsexperimente von zweifach modifizierten Hydrogel-Kompositmembranen mit und ohne Glycerinkonservierung.

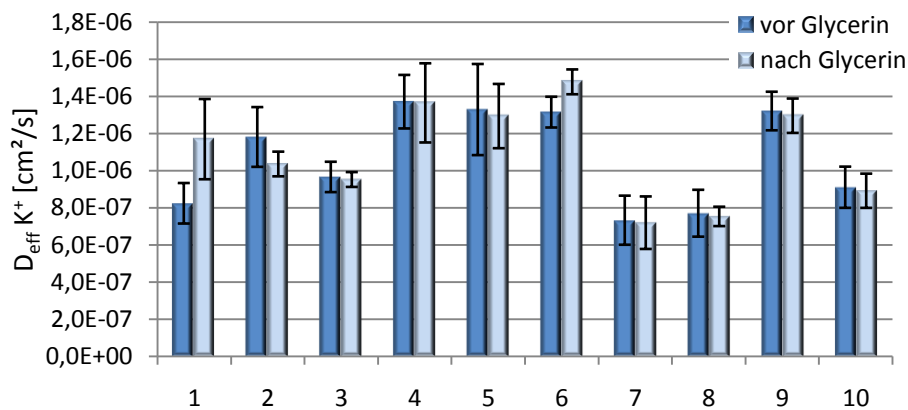


Abb. 5.48: Kaliumdiffusionskoeffizient vor/nach Glycerinkonservierung von zweifach modifizierten, selbst produzierten Kompositmembranen.

Mit Hilfe der Abb. 5.48 kann geschlussfolgert werden, dass ein Herauswaschen des Glycerin aus der Membran vor Implantation nicht nötig ist, da der Kaliumdiffusionskoeffizient nicht negativ beeinflusst wird. Jedoch erkennt man Anhand der Absolutwerte der 10 Proben, dass zum Ende der Promotion die selbst produzierten Membranen inhomogener wurden. Dies äußerte sich nicht nur in den Kaliumdiffusionskoeffizienten, sondern auch durch auftretende, optisch sichtbare Membrandefekte.

### 5.6.2 *In vivo* Tierversuche

Um das Verhalten der Membranen, insbesondere im Bezug auf die *Anti-Fouling* Eigenschaften im Blutkreislauf zu untersuchen, erfolgten beim Projektpartner *in vivo* Tierversuche mit Hausschweinen. Dazu wurden die verschiedenen Membranentwicklungsstufen auf einem Titan-Membranträger aufgeschweißt und für 30 Tage in einer Vene implantiert. Die folgende Abb. 5.49 zeigt einen explantierten Membranträger.



Abb. 5.49: Explantierter Membranträger mit zwei Membranproben. Vorne: 1. Modifizierung; hinten: Basismembran

Beide Membranen weisen eine Gelbfärbung unbekannten Ursprungs auf, wobei bei der Basismembran zusätzlich lokal, locker gebundenes Gewebe aufliegt. Darüber hinaus zeigten die *in vivo* Tierversuche eine große Varianz von Tier zu Tier, da der Grad der Gelbfärbung und der Gewebeanhaftung stark variierte. Abb. 5.50 zeigt zwei explantierte, zweifach modifizierte Kompositmembranen.

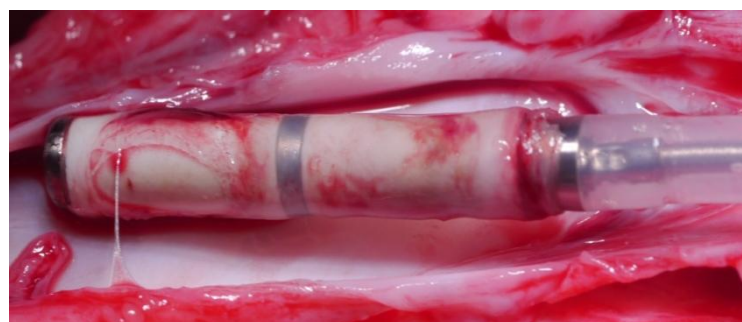


Abb. 5.50: Explantierter Membranträger mit zwei Membranproben der zweifach modifizierten Kompositmembran



Die explantierten zweifach modifizierten Kompositmembranen zeigen keine Gelbfärbung des Membranmaterials. Darüber hinaus ist der gesamte Träger mit einem gummiartigen schnittfesten Gewebe überzogen. Eine anschließend durchgeführte histologische Untersuchung ergab, dass es sich bei diesem Gewebe um eine Collagenschicht mit Endothelzellen an der äußeren Oberfläche handelt und somit keine Thrombogenität durch die Membran/Träger vorliegt.

Die durchgeführten *in vivo* Experimente bestätigten somit die guten *Anti-Fouling* Eigenschaften der zweifach modifizierten Kompositmembran, sowie die Unbedenklichkeit der Membran, wodurch diese prinzipiell als Barrieremembran für den geplanten Kaliumsensor verwendet werden kann.

## **5.7 Kompositmembranen mit eingestelltem isoelektrischen Punkt und variierter Größenausschlussgrenze**

Um nähere Informationen über das Pflöpfungsverhalten der beiden Monomere DMAPAA und AMPS zur Erzeugung einer amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht zu erhalten, wurde eine äquimolare Mischung mit einer Gesamtkonzentration von 150 mM auf insgesamt 6 verschiedenen PES UF-Membranen gegräftet. Es wurde die selbst produzierte Basismembran sowie fünf Membranen von Sartorius verwendet, deren *Cut-Off* 1 kDa, 5 kDa, 50 kDa, 100 kDa sowie 300 kDa betrugen. Darüber hinaus wurde für jede dieser Membranen die Belichtungszeit in fünf Minuten Intervallen zwischen 15 und 30 min variiert, sodass am Ende insgesamt 24 verschiedene Kompositmembranen vorlagen. Anschließend wurde das Zetapotential von diesen 24 verschiedenen Kompositmembranen gemessen und ausgewertet.

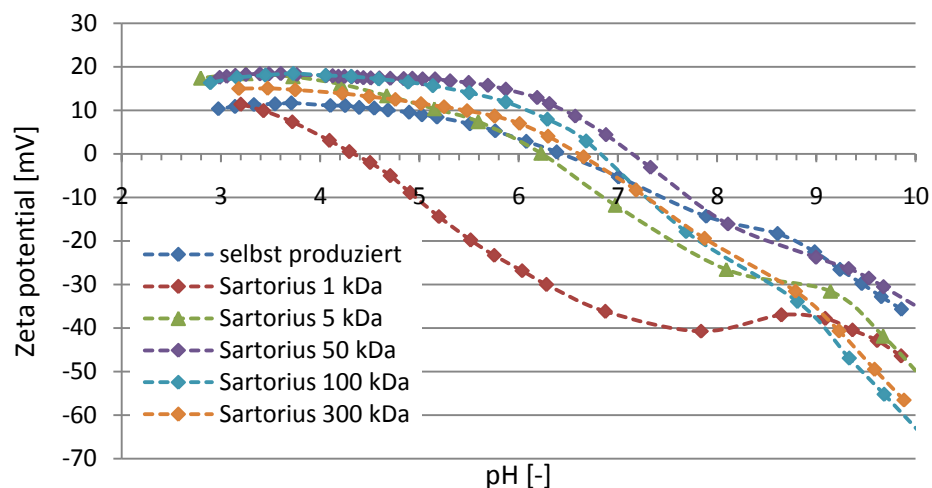


Abb. 5.51: Zetapotentialverlauf der 6 verwendeten PES Membranen mit einer Belichtungszeit von 15 min.

Mit Ausnahme der Sartorius 1 kDa Membran ist der Verlauf des Zetapotentials der übrigen 5 Membranen in Abb. 5.51 annähernd identisch, wobei der IEP dieser Membranen in einem Bereich von 6,2 - 7,2 liegt. Der IEP der modifizierten Sartorius 1 kDa Membran liegt hingegen bei pH 4,4. Die dargestellten Zetapotentialverläufe dienen an dieser Stelle nur der Veranschaulichung. Die Zetapotentialverläufe der übrigen Modifizierungen werden an dieser Stelle nicht aufgeführt, sondern sind im Anhang unter Punkt 9.1.1 zu finden. Zur besseren Interpretation der Ergebnisse werden die ermittelten isoelektrischen Punkte aller Modifizierungen gemeinsam in Abb. 5.52 dargestellt.

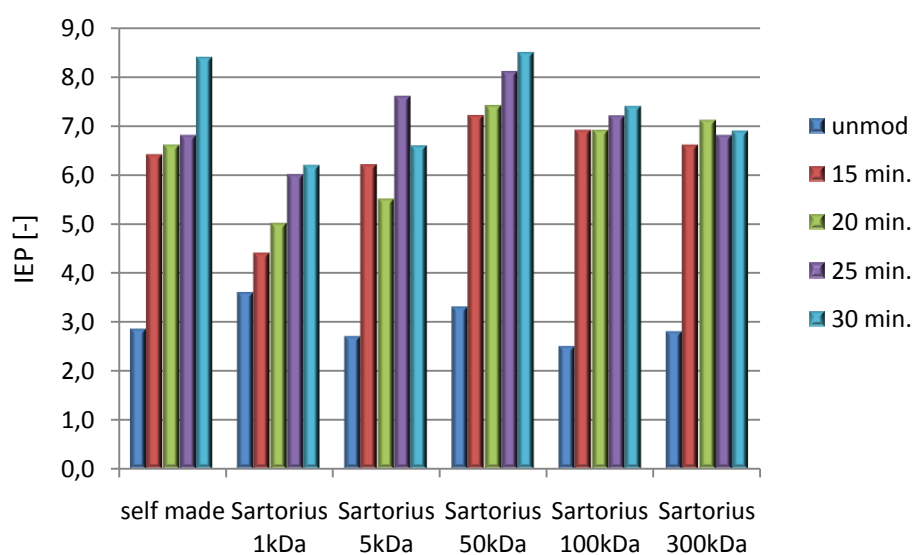


Abb. 5.52: Abhängigkeit des isoelektrischen Punktes von der Belichtungszeit für 6 verschiedene PES UF-Membranen.

Bei allen verwendeten Membranen ergibt sich dieselbe Abhängigkeit des IEPs von der Belichtungszeit. Mit steigender Belichtungszeit driftet der IEP zu höheren pH-Werten. Einzige Ausnahme bei diesem Trend sind die modifizierten Sartorius 5 kDa Membranen, wo der IEP ein alternierendes Verhalten mit steigenden und fallenden pH-Werten aufzeigt. Darüber hinaus erkennt man einen Einfluss der Porengröße. Mit steigender Porengröße bzw. *Cut-Off* nimmt der Effekt der Belichtungszeit ab, da die Variation der IEP Werte kleiner werden. So steigt der IEP bei den modifizierten Sartorius 1 kDa Membranen von pH 4,4 auf pH 6,2, wohingegen bei den modifizierten Sartorius 300 kDa Membranen der IEP nur von pH 6,6 auf pH 6,9 ansteigt.

Die Tatsache, dass überhaupt eine Abhängigkeit des *Grafting*-Ergebnisses von der Belichtungszeit existiert lässt den Schluss zu, dass die unterschiedliche Pfropfung der beiden Monomere kinetischen Einflüssen unterliegt, wobei makroskopisch betrachtet mit steigender Belichtungszeit vermehrt DMAPAA in die resultierende Hydrogelstruktur polymerisiert wird.

## 5.8 Proteinseparation mit Kompositmembranen mit amphoterer Ionenaustauscherschicht

### 5.8.1 Konzept der Proteinseparation

Wie in Kapitel 2.3.3 bereits beschrieben existieren keine Veröffentlichungen bezüglich einer Proteinseparation durch die Kombination von Größen- und Ladungsselektivität, bei welcher eine amphotere Oberflächenbeschichtung verwendet wird. Zu diesem Zweck wurden die Eigenschaften und die generelle Eignung einer solchen Kompositmembran zur Proteinultrafiltration getestet. Dazu wurde eine Phosphat gepufferte Proteinmischung bestehend aus Albumin (*bovine serum albumin*, BSA) und Myoglobin (Myo) benutzt, wobei drei verschiedene pH-Werte (4,8; 6,0; 7,0) und je drei verschiedene Ionenstärken (1 mM; 10 mM; 100 mM) verwendet wurden. Somit lagen insgesamt 9 verschiedene Proteinlösungen vor. Die Konzentration des Phosphatpuffers betrug dabei 20 mM. Bei den gewählten pH-Werten konnten Filtrationsbedingungen generiert werden, bei

welchen Membran und Protein entweder die gleiche oder die entgegengesetzte Nettoladung vorwiesen und somit attraktive bzw. repulsive elektrostatische Wechselwirkungen eintraten.

### 5.8.2 Einstellung der Ultrafiltrationsbedingungen

Als Basismembran für die Proteinultrafiltration fungierte eine 100 kDa PES Membran der Firma Sartorius Stedim Biotech. Erneut wurde eine amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht bestehend aus DMAPAA und AMPS auf die Membran gepfropft. Bei der Verwendung eines molaren Mischungsverhältnisses von DMAPAA/AMPS 45/55 mol%, einer Gesamtkonzentration von 150 mM und einer Belichtungszeit von 15 min resultierte eine Hydrogel-Kompositmembran mit einem isoelektrischen Punkt von pH 6. Dieser IEP wurde ausgewählt, da pH 6 zwischen den beiden isoelektrischen Punkten der beiden Proteine (BSA, pH 4,8; Myoglobin pH 7,0) liegt. Die Reproduzierbarkeit der IEP Einstellung ist in Abb. 5.53 dargestellt.

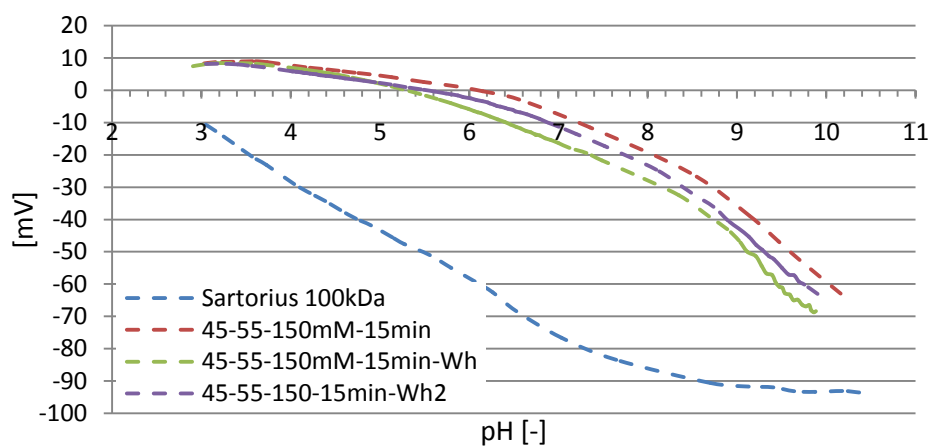


Abb. 5.53: Zetapotential der Hydrogel-Kompositmembranen zur Proteinultrafiltration.

Entsprechend der Daten aus Abb. 5.53 erkennt man, dass die Reproduzierbarkeit der IEP-Einstellung nicht so ausgeprägt ist wie die Einstellung auf den pH-Wert des Blutes wie in Kap. 5.3.4 beschrieben. Stattdessen schwankt der IEP in einem recht großen Bereich zwischen pH 5,5 und 6,2. Als mögliche Ursache hierfür kann das verwendete Basismaterial genannt werden. Dennoch konnte mit diesen Kompositmembranen experimentiert

werden, da unter Berücksichtigung der Schwankung der IEP der Kompositmembran noch immer etwa eine pH-Wert Einheit von dem des BSAs entfernt war.

Die jeweiligen Nettoladungen der Proteine sowie der Kompositmembran sind in Tab. 5.10 zur besseren Übersicht zusammengefasst.

Tab. 5.10: Nettoladung der Proteine und der Membran in Abhängigkeit des pH-Wertes.

| Nettoladung     | pH 4,8  | pH 6,0  | pH7,0   |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Kompositmembran | +       | neutral | -       |
| BSA             | neutral | -       | -       |
| Myoglobin       | +       | +       | neutral |

Um den Einfluss einer auftretenden Konzentrationspolarisation zu minimieren wurde der kritische Fluss/Druck von drei modifizierten PES 100 kDa Membran bestimmt. Die erzielten Ergebnisse sind exemplarisch für eine Membran in Abb. 5.54 dargestellt.

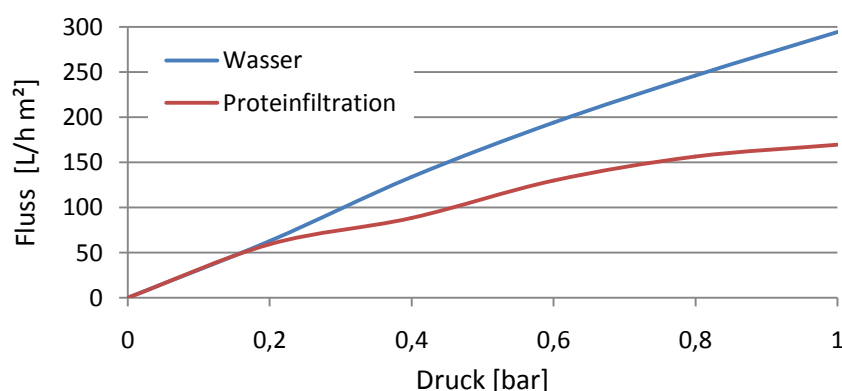


Abb. 5.54: Ermittlung des kritischen Flusses/Druckes für modifizierte PES 100 kDa Membranen.

Bei einer Wasserfiltration durch die Membran resultiert ein erwarteter, linearer Zusammenhang. Mit steigendem transmembranen Druck nimmt der Fluss linear zu. Bei der Verwendung der Proteinmischung (pH 6,0; 1 mM) hingegen weicht der resultierende Fluss vom idealen Verhalten ab, wobei dies ab einem Druck von ca. 0,2 bar bzw. einem Fluss von ca. 50 L/h m<sup>2</sup> der Fall ist. Basierend auf diesen Daten wurden alle weiteren Proteinfiltrationen mit einem Initialfluss von 50 L/h m<sup>2</sup> durchgeführt. Auf die Darstellung der Bestimmung des kritischen Flusses/Druckes der übrigen Membranen wird an dieser

Stelle aus Gründen der Übersicht verzichtet. Die entsprechenden Abbildungen sind im Anhang (Kap. 9.1.2) dargestellt.

### 5.8.3 Hydrodynamischer Durchmesser der Proteine

Die hydrodynamischen Durchmesser von BSA und Myoglobin wurden in Abhängigkeit des pH-Wertes sowie der Ionenstärke mit Hilfe von DLS Messungen ermittelt und sind in Abb. 5.55 dargestellt.

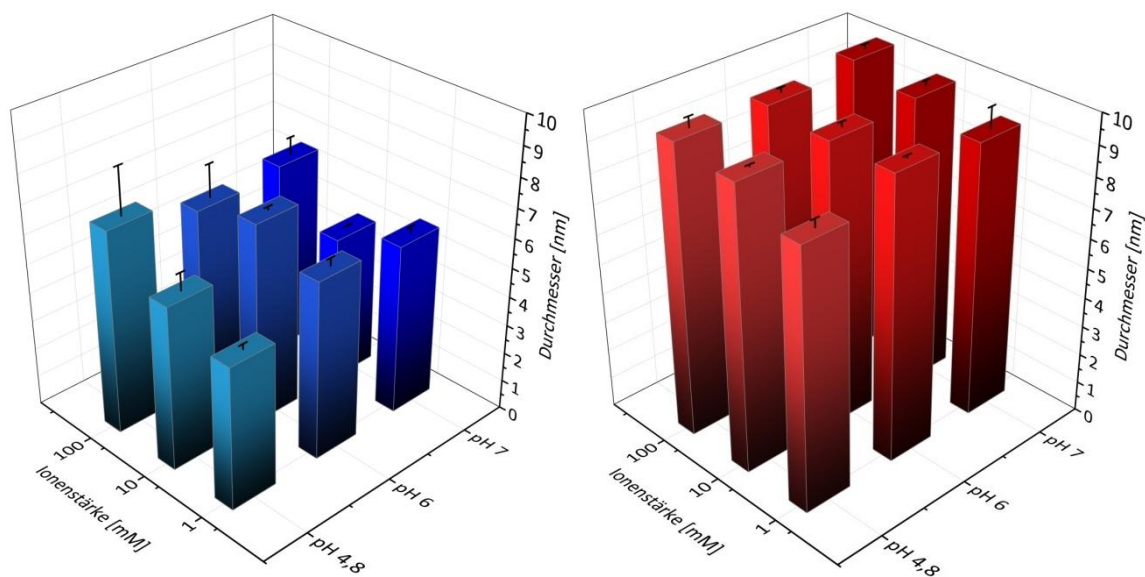


Abb. 5.55: Hydrodynamische Durchmesser von Myoglobin (links, blau) und BSA (rechts, rot) in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Ionenstärke.

Beide Proteine zeigten keine signifikante Variation des hydrodynamischen Durchmessers bei den unterschiedlichen pH-Werten sowie Ionenstärken. Es konnte kein einheitlicher Trend festgestellt werden, welcher auf eine solche Abhängigkeit schließen lässt. Erwartungsgemäß war der Durchmesser von BSA (Molekulargewicht ~ 66 kDa) mit ca. 9 nm größer als der Durchmesser von Myoglobin (Molekulargewicht ~ 17 kDa), welcher ca. 5 nm betrug. Positiv bei dieser Testreihe war die Tatsache, dass selbst bei einer Ionenstärke von 100 mM weder Proteinagglomerate noch Aussalzungseffekte aufgetreten sind. In Bezug auf die Proteinfiltrationsexperimente lässt sich festhalten, dass evtl. unterschiedliche Rückhaltewerte der einzelnen Proteine nicht auf ungleiche

Partikeldurchmesser und damit einhergehende unterschiedliche Größenselektivität der Membran zurückzuführen sind.

#### 5.8.4 pH abhängige Quellung der amphoterer Ionenaustauscherschicht

Um den Einfluss der Quellung und des damit einhergehenden Widerstandes der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht zu erfassen, wurde der Quellgrad von Referenzbulkhydrogelen bei den unterschiedlichen pH-Werten und Ionenstärken bestimmt.

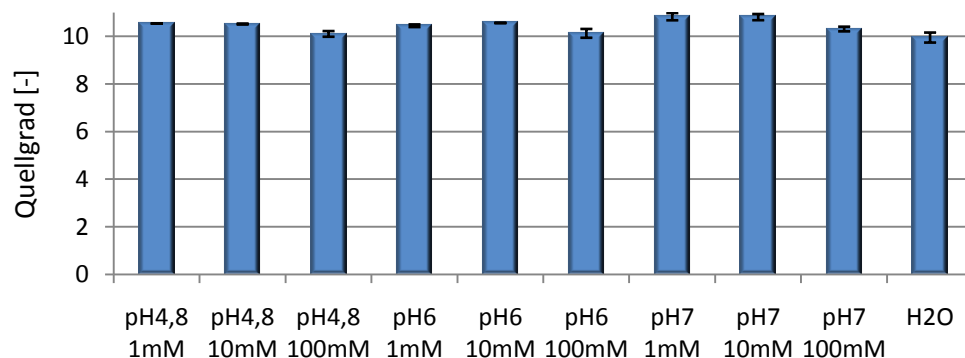


Abb. 5.56: Quellgrad der Referenzbulkhydrogele bei den entsprechenden pH-Werten und Ionenstärken.

Sämtliche Bulkhydrogele zeigten ein fast identisches Quellverhalten und somit keinen signifikanten Einfluss vom verwendeten pH-Wert bzw. von der Ionenstärke. Jedoch war der Quellgrad bei allen drei pH-Werten bei einer Ionenstärke von 100 mM geringfügig kleiner als bei einer Ionenstärke von nur 1 mM. Dieses Ergebnis steht somit im direkten Gegensatz zu den ermittelten Quellgraden der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht aus Tab. 5.6. In Bezug auf die Proteinfiltrationsexperimente lässt sich aber festhalten, dass unterschiedliche Rückhaltewerte nicht auf ein unterschiedliches Verhalten der Hydrogelschicht zurückzuführen sind.

#### 5.8.5 Proteinrückhalt

Der Rückhalt der beiden Proteine wurde entsprechend Gl. 2.17 berechnet und ist für beide Proteine einzeln in den Abb. 5.57 und 5.58 dargestellt.

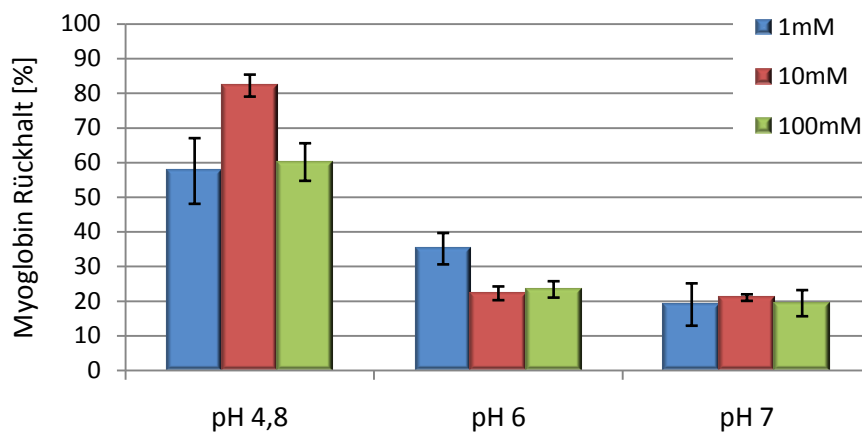


Abb. 5.57: Myoglobin Rückhalt (aus Proteinmischung) in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Ionenstärke. Pufferkonzentration = 20 mM.

Der Myoglobin Rückhalt zeigt eine starke Abhängigkeit vom verwendeten pH-Wert. So ist der Rückhalt bei pH 4,8 im Mittel um den Faktor 2,5 größer als bei den anderen beiden pH-Werten. Dies kann mit der gleichen positiven Nettoladung von Myoglobin und der Kompositmembran und der damit verbundenen elektrostatischen Repulsion begründet werden. Bei den pH-Werten 6,0 und 7,0 herrscht entweder bei der Membran oder dem Protein Ladungsneutralität, wodurch ein geringerer, vergleichbarer Rückhalt resultiert. Ferner existiert anhand der Ergebnisse kein signifikanter Einfluss der Ionenstärke auf den Proteinrückhalt.

Darüber Hinaus wurden Ultrafiltrationsexperimente mit unmodifizierten und zweifach modifizierten Kompositmembranen (zusätzliche *pSPP* Schicht auf der bereits vorhandenen amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht) sowie mit einer reinen Myoglobin-Lösung durchgeführt, damit eine bessere Bewertung der auftretenden Effekte erfolgen kann.



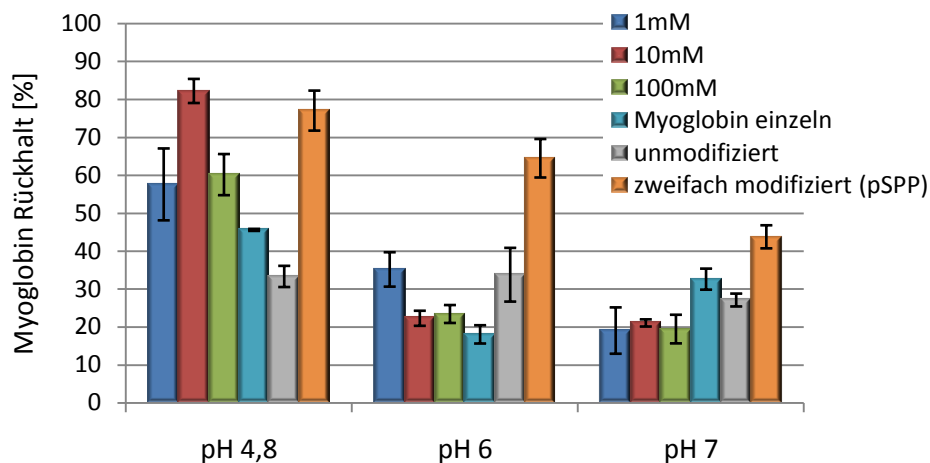


Abb. 5.58: Myoglobin Rückhalt (aus Proteinmischung) für modifizierte und unmodifizierte PES 100 kDa Membranen.

Vergleicht man die Werte der einfach modifizierten Kompositmembran (blau, rot und grün) mit einer unmodifizierten Basismembran (grau), erkennt man, dass entsprechend der Erwartung keine pH Abhängigkeit des Rückhaltes bei einer umodifizierten Membran zu beobachten ist. Wird Myoglobin einzeln (hellblau) und nicht wie bisher in einer Proteinmischung verwendet, ergeben sich geringere Rückhaltewerte, wobei die pH-Abhängigkeit jedoch erhalten bleibt. Das verringerte Rückhaltevermögen der Membran bei Myoglobin kann auf ein mögliches unterschiedliches *Fouling* zurückgeführt werden. Bei der Verwendung von Proteinmischungen tritt ein stärkeres, kombiniertes Protein-*Fouling* auf, wodurch der Rückhalt der Proteine unter Gebrauch solcher Mischungen meistens erhöht ist.<sup>[48]</sup>

Wird des Weiteren eine zweifache Membranmodifizierung mit einer zusätzlichen pSPP Hydrogelschicht verwendet, ergibt sich ein wesentlich größerer Rückhalt bei pH 6,0 und 7,0 als bei allen anderen getesteten System. Bei einem pH-Wert von 4,8 ist der Rückhalt einer solch zweifach modifizierten Membran nur unwesentlich geringer als bei einer einfach modifizierten Membran und einer Ionenstärke von 10 mM, wobei letztgenannter Rückhalt übermäßig groß ist und nicht mit den übrigen Werten verglichen werden kann.

Die folgende Abb. 5.59 illustriert hingegen den Rückhalt von BSA aus denselben Ultrafiltrationsexperimenten.

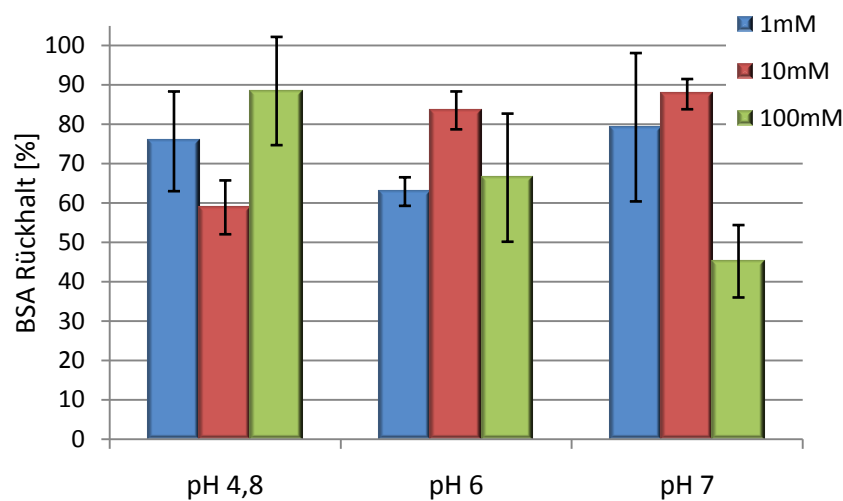


Abb. 5.59: BSA Rückhalt (aus Proteinmischung) in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Ionenstärke. Pufferkonzentration = 20 mM.

Der Rückhalt von BSA zeigt im Gegensatz zu Myoglobin keine ausgeprägte Abhängigkeit vom eingestellten pH-Wert und nimmt darüber hinaus durchgehend größere Werte an. Der Grund für dieses Verhalten beruht auf der Tatsache, dass der Rückhalt von BSA im Gegensatz zu Myoglobin auf einer dominierenden Größenselektivität der Kompositmembran beruht. Dies verdeutlichen auch die identischen Rückhaltewerte der einfach und zweifach modifizierten Kompositmembranen sowie der unmodifizierten Membran mit Ausnahme bei pH 6,0, dargestellt in Abb. 5.60.

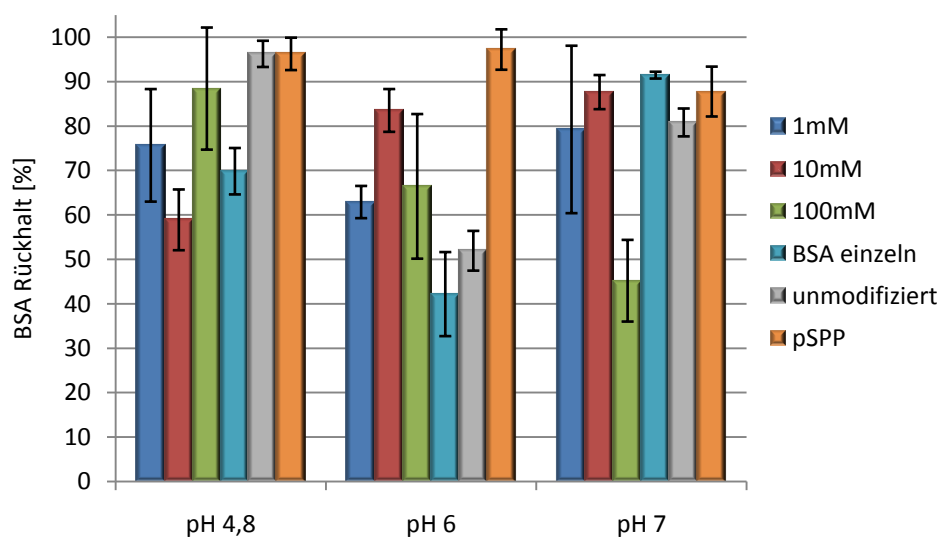


Abb. 5.60: BSA Rückhalt (aus Proteinmischung) für modifizierte und unmodifizierte PES 100 kDa Membranen.

Auch bei BSA zeigt sich ein geringerer Rückhalt bei der Verwendung von reinem BSA im Gegensatz zu einer sonst verwendeten Proteinmischung. Der Grund kann auch an dieser Stelle auf das bereits beschriebene stärkere kombinierte *Fouling* der Proteinmischung beruhen. Einzige Ausnahme hierbei ist der Rückhalt bei pH 7,0.

Wie schon bei Myoglobin lässt sich auch bei dem BSA Rückhalt keine einheitliche Abhängigkeit von den verwendeten Ionenstärken ausfindig machen.

### 5.8.6 Flussverringering während der Ultrafiltration

Während der Ultrafiltration der Proteinlösungen wurde in einem Intervall von 1 min die Menge des Permeates bestimmt und damit der Fluss der Membran berechnet. Die Abb. 5.61 beinhaltet den zeitlichen Verlauf des auf 1 normierten Membranflusses für die verschiedenen Membranen bzw. Proteinlösungen bei einem pH-Wert von 4,8.

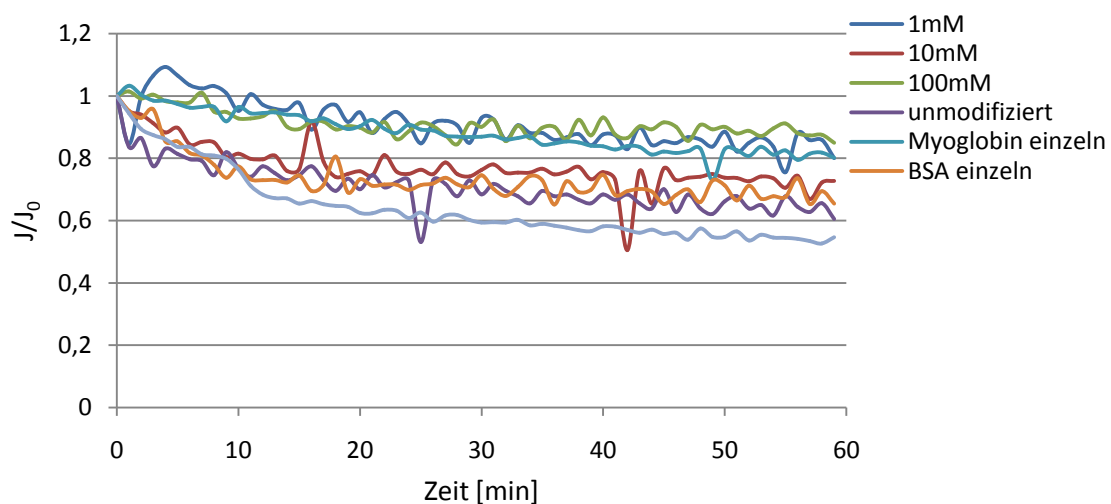


Abb. 5.61: Zeitlichen Verlauf des Membranflusses für die verschiedenen Membranen bzw. Proteinlösungen bei einem pH-Wert von 4,8.

Sämtliche in Abb. 5.61 dargestellten Flussverläufe bilden den Mittelwert aus je drei Filtrationsexperimenten. Generell nimmt der Fluss durch die Membranen während der Ultrafiltration innerhalb von einer Stunde zwischen 20 und 40 % ab. Dabei ergibt sich keine einheitliche Abhängigkeit der Flussreduktion von der verwendeten Ionenstärke. Ferner ist der Flussabfall bei der zweifach modifizierten Kompositmembranen (hellblau) am stärksten ausgeprägt und sogar größer als für die unmodifizierten Basismembranen.

Der Flussabfall während der Ultrafiltration ergibt jedoch bei einem Vergleich der verschiedenen pH-Werte kein homogenes Bild, wodurch auf eine weitere Präsentation der Ergebnisse aus Gründen der Übersicht verzichtet wird und diese Daten stattdessen im Anhang unter Kap. 9.1.2 zu finden sind.

### 5.8.7 Flusswiederherstellung

Nach der Proteinultrafiltration erfolgte ein Reinigungsschritt mit 0,1 M NaOH, um die Flusswiederherstellung nach diesem Reinigungsschritt zu ermitteln. Die erzielten Ergebnisse für die Proteinmischungen sind in Abb. 5.62 illustriert.

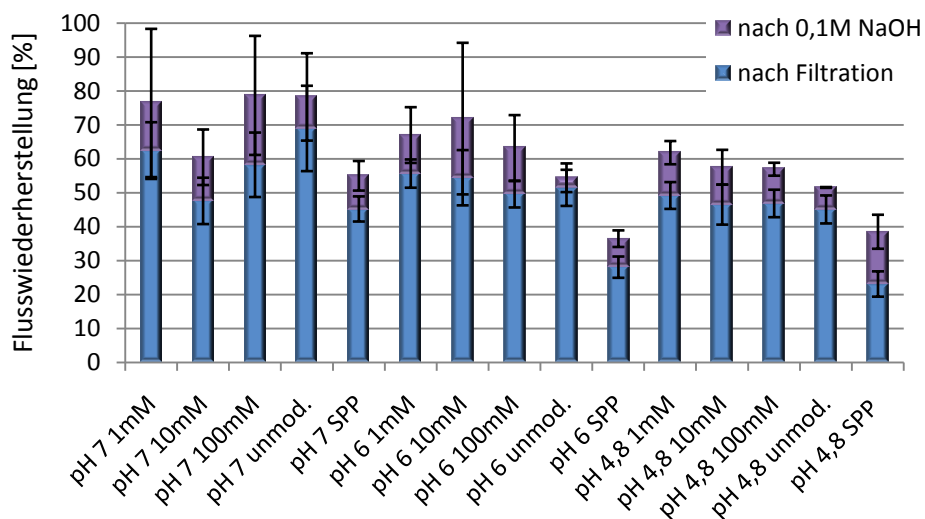


Abb. 5.62: Flusswiederherstellung der Kompositmembranen nach NaOH Reinigung.

Mit Ausnahme der zweifach modifizierten Kompositmembranen sowie bei pH 7,0; 10 mM NaCl ist die Flusswiederherstellung der übrigen modifizierten Membranen größer als die der unmodifizierten Basismembran. Dabei ist der positive Effekt der Hydrogelschicht nicht so stark ausgeprägt, als dass ein nennenswerter Unterschied zwischen den modifizierten und unmodifizierten Membranen existiert. Die Flusswiederherstellung der zweifach modifizierten Kompositmembranen ist bei allen drei pH-Werten geringer als bei den Basismembranen, was die in Kap. 5.8.6 aufgestellte These des stärkeren internen *Fouling*s bekräftigen würde.

Abb. 5.63 beinhaltet abschließend die Daten der Flusswiederherstellung bei den Einzelproteinfiltrationen.

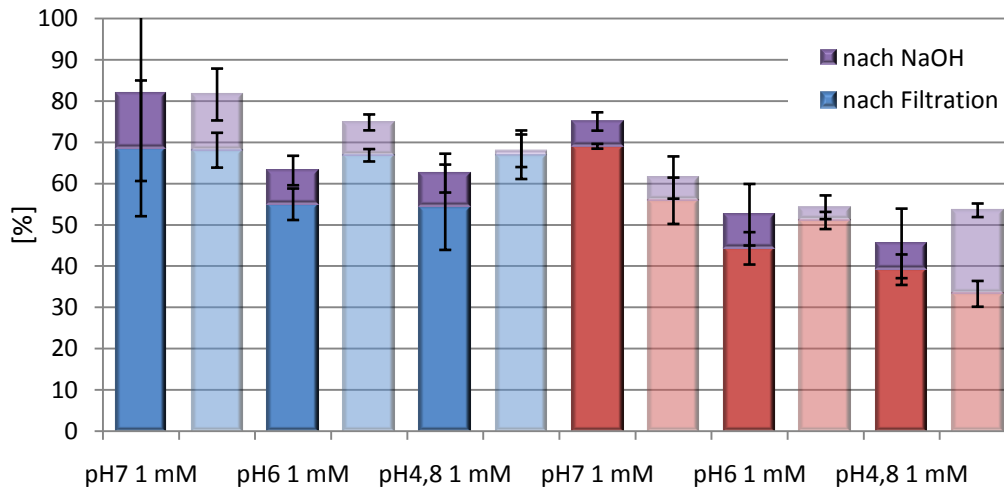


Abb. 5.63: Flusswiederherstellung nach Einzelproteinultrafiltration. Blau: Myoglobin; rot: BSA; dunkle Säulen: modifizierte Membranen; helle Säulen: unmodifizierte Membranen.

Bei der Betrachtung der Flusswiederherstellung bei der Verwendung einer Myoglobin-Lösung erkennt man eine verschlechterte Flusswiederherstellung mit sinkendem pH-Wert. Dies gilt sowohl für modifizierte als auch für unmodifizierte Membranen. Bei den modifizierten Membranen ist dieser Trend unerwartet, da bei einem pH-Wert von 4,8 sowohl Membran als auch Myoglobin netto positiv geladen sind und somit repulsive elektrostatische Wechselwirkungen vorliegen, welche ein auftretendes *Fouling* reduzieren sollten.

Die gleiche Entwicklung der Flusswiederherstellung hinsichtlich der pH-Werte ergibt sich ebenfalls bei der BSA Filtration. Dieses Mal jedoch könnte die gute Flusswiederherstellung bei einem pH-Wert von 7,0 auf die repulsiven elektrostatischen Wechselwirkungen zurückgeführt werden, da bei pH 7,0 sowohl Membran als auch BSA netto negativ geladen sind. Jedoch stellt es keinen Unterschied dar ob beide Komponenten (Membran und Protein) netto positiv oder negativ geladen sind, wodurch diese Erklärung er unterschiedlichen Flusswiederherstellung in sich nicht konsistent ist.

## 6. Diskussion

## 6.1 Kommerzielle PES UF-Membranen

Die Oberflächeneigenschaften der vermessenen kommerziellen PES UF-Membranen weichen nicht stark voneinander ab. Dies ist vor allem in Hinsicht auf die elektrochemischen Oberflächeneigenschaften der Fall. So besitzt das Zetapotential aller Membranen in einem großen pH-Bereich von 10 - 4 ein negatives Vorzeichen, wobei der IEP der Membranen lediglich zwischen pH 2,8 und 3,8 variiert. Der stark negative Verlauf des Zetapotentials beruht dabei auch auf der Tatsache, dass Anionen aufgrund der schlechteren Hydratation stärker an der Membranoberfläche adsorbieren als Kationen. Bei der näheren Betrachtung der Lage des IEPs der 5 kDa Membranen von Millipore, Pall und Sartorius ist auffällig, dass der IEP der Sartoriusmembran mit 2,8 um etwa eine pH-Wert Einheit von dem IEP der anderen beiden Membranen (3,6 bzw. 3,8) abweicht und generell den niedrigsten IEP aller Membranen besitzt. Da diese drei Membranen über den gleichen *Cut-Off* verfügen und aus dem gleichen Basispolymer gefertigt sind lässt dies die Vermutung aufkommen, dass bei der Herstellung der Sartorius 5 kDa darüber hinaus Additive (z.B. PVP) zur Verbesserung der Membraneigenschaften verwendet wurden. Dadurch würden Änderungen bei den elektrochemischen Oberflächeneigenschaften entstehen.

Unter der Berücksichtigung der Kontaktwinkel der Membranen für Wasser erhärtet sich diese Vermutung, da sich der Kontaktwinkel der Sartorius 5 kDa Membran mit einem Wert von ca. 40 ° am stärksten von allen übrigen Werten unterscheidet und nur etwa halb so groß ist wie der der übrigen 5 kDa Membranen von Millipore und Pall (ca. 70 °). Die bessere Hydrophilie der Sartorius 5 kDa Membranen deutet somit auf die mögliche Verwendung von Additiven zur Steigerung der Hydrophilie (z.B. PVP) hin.

Die vermessenen Membranen unterscheiden sich dabei jedoch nicht nur bei den ermittelten Oberflächeneigenschaften, sondern vor allem im Bezug auf ihre Transporteigenschaften. Diese Tatsache beruht auf den unterschiedlichen Schichtdicken der Membranen, da viele Hersteller Membranen mit einer zusätzlichen Stützschrift zur mechanischen Stabilität produzieren. So besaßen mit Ausnahme der Sartorius 1 und 5 kDa alle Membranen eine zusätzliche Polypropylen oder Cellulose Stützschrift. Der

Einfluss der Schichtdicke wurde vor allem bei der Bestimmung des Kaliumflusses deutlich. So steigerte sich der Kaliumfluss durch die Membranen mit abnehmender Schichtdicke. Dieser Trend war besonders bei der Verwendung der gleichen theoretischen Oberflächenporosität von 5 % ausgeprägt. Da der molare Kaliumfluss als Stoffmenge pro Zeiteinheit angegeben wird, reduziert sich dieser mit wachsender Schichtdicke und einer damit verbundenen längeren Transportzeit durch die Membran.

Die Relevanz der Schichtdicke spiegelt sich auch bei den berechneten Kaliumdiffusionskoeffizienten wieder. Wird eine hypothetische Oberflächenporosität von 5 % zur Berechnung genutzt, ergibt sich der mit Abstand größte Kaliumdiffusionskoeffizient bei den Sartorius 1 und 5 kDa Membranen. Die Dicke der trennselektiven Oberflächenschicht beträgt bei diesen beiden Membranen etwa 250 - 300 nm, während die trennselektive Schicht bei den übrigen Membranen eine Stärke von bis zu einem Mikrometer aufweist, bevor die makroporöse Fingerporenstruktur der Membranen beginnt. Da die trennselektive Oberflächenschicht mit den Nanoporen entsprechend dem Widerstandsmodell der limitierende Bereich für den Transport durch einer Membran ist (siehe Kap. 2.1.4, Seite 12), ergibt sich der größte Diffusionskoeffizient durch die kommerziellen Membranen bei den beiden Sartorius Membranen mit der geringsten Dicke der trennselektiven Schicht.

Bei der Betrachtung der REM-Aufnahmen erkennt man darüber hinaus, dass die Dicke der trennselektiven Schicht zum Teil starke Schwankungen aufweist, wodurch zur Berechnung der Kaliumdiffusionskoeffizienten immer die gesamte Membrandicke verwendet wurde.

Vergleicht man darüber hinaus die Diffusionskoeffizienten der vier verschiedenen Pall sowie der beiden Sartorius Membranen, kann ferner eine Abhängigkeit der Kaliumdiffusion vom *Cut-Off* und damit der Porengröße der trennselektiven Schicht beschrieben werden. Einzig die 1 kDa Pall Membran folgt nicht diesem Trend.



## 6.2. Festlegung der Zielsetzung/ Anforderungen an die Membran

Die Anforderungen an die zu entwickelnde Membran standen zu Beginn der Promotion nicht vollständig fest, sondern resultierten auch aus den durchgeführten Experimenten. Durch die Tatsache, dass der Kaliumfluss maßgeblich von der gesamten Membrandicke abhängig ist und gleichzeitig keine kommerzielle Membran mit einer Schichtdicke kleiner 120 µm existierte, rückte die Präparation einer eigenen, 45 µm dünnen anisotropen UF-Membran in den Fokus. Diese Membrandicke wurde auch unter Berücksichtigung der mechanischen Stabilität der Membran ausgewählt.

Ferner führten die durchgeführten Sterilisationsexperimente zu der Erkenntnis, dass eine Konservierung der Membran zur Vermeidung von Austrocknungseffekten notwendig ist. Andernfalls ist es auch durch die hohe Oberflächenspannung von Wasser nicht mehr möglich, die gesamte innere Oberfläche der Membran zu benetzen wodurch nur noch ein Teil der Porenstruktur für den Stofftransport zur Verfügung steht. Daraus folgte unweigerlich eine Reduktion des Kaliumflusses sowie des effektiven Diffusionskoeffizientens, dargestellt in Abb. 5.45 (Seite 118). Zur Konservierung der Membranen während der Sterilisation wurde Glycerin verwendet, welches aufgrund des sehr niedrigen Dampfdruckes von  $< 1 \times 10^{-3}$  mbar während der Sterilisation in der Porenstruktur verbleibt. Die erfolgreiche Membrankonservierung ist anhand der Kaliumdiffusion vor/nach EO Sterilisation in Abb. 5.46 (Seite 119) dargestellt.

Durch die Ergebnisse dieser durchgeführten Experimente resultierte die folgende Zielsetzung bzw. die Anforderungen an die Membran:

- hoher Kaliumfluss
- Membrandicke = 45 µm
- Rückhalt anderer Blutbestandteile (Proteine, Stoffwechselprodukte etc.)
- *Cut-Off* ~ 5 kDa
- Biokompatibilität der Membran
- Sterilisationsbeständigkeit bei Ethylenoxid (EO) Sterilisation
- hohe Kaliumselektivität
- hohe *Anti-Fouling* Eigenschaften
- Langzeitstabilität

## 6.3 Membranherstellung

### 6.3.1 Variation des PEG Gehaltes

Die Struktur bzw. Morphologie einer Membran ist entscheidend für die spätere Anwendung. Dazu zählen Faktoren wie Struktur und Dicke der trennselektiven Schicht, welche nicht nur maßgeblich die Permeabilität und den Rückhalt bestimmen, sondern auch die Struktur und Schichtdicke der gesamten Membran. Diese Faktoren sind entscheidend für die mechanische Stabilität oder das Quellverhalten einer Membran.

Bei der schrittweisen Optimierung der Rakellösung zur Herstellung einer 45 µm dünnen PES Membran konnte als erstes ein starker Einfluss des hydrophilen Additives PEG auf die resultierende Permeabilität der Membran ausgemacht werden. Mit steigendem PEG Anteil nahm die Porosität und damit die Wasserpermeabilität zu. Unter thermodynamischen Gesichtspunkten verschieben hydrophile Additive wie beispielsweise PEG die Zusammensetzung der Dope-Lösung näher an die Binodalkurve und somit näher an den metastabilen Bereich der Lösung. Bei einer kinetischen Betrachtungsweise führen hydrophile Additive zu einer schnelleren Interdiffusion von Lösungsmittel und Nichtlösungsmittel wodurch der Austausch beschleunigt wird.<sup>[132]</sup> Durch diesen Effekt dienen hydrophile Additive als „Porenbildner“ bei der Membranherstellung.<sup>[133,134]</sup> Jedoch wurde dieser stark ausgeprägte Effekt bei der Herstellung der ersten selbst produzierten Membranen unterschätzt. Der PEG Anteil in der Dope-Lösung wurde daraufhin schrittweise reduziert, da eine engporige UF-Membran mit einem kleinen *Cut-Off* von 5 kDa angestrebt wurde. Den Effekt von PEG auf die Membranporosität verdeutlicht Abb. 6.1. Die Membranen wurden entsprechend dem 1. und 4. Ansatz aus Tab. 5.3 (Seite 80) hergestellt.

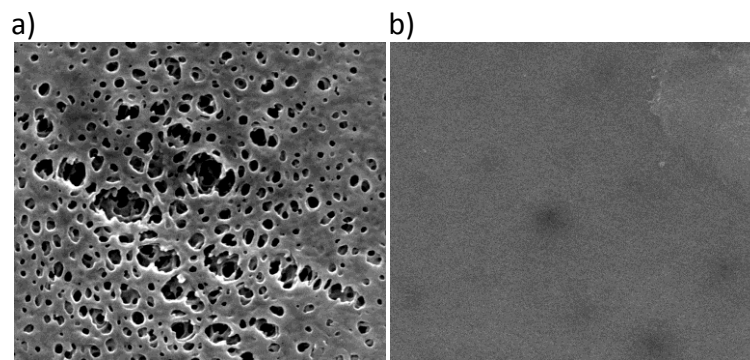


Abb. 6.1: REM Aufnahmen der Membranoberfläche. a: Dope-Lösung entsprechend 1. Ansatz b: Dope-Lösung entsprechend 4. Ansatz. Vergrößerung jeweils 50.000.

### 6.3.2 Variation des LiBr Gehaltes

Einen ebenso großen Einfluss wie hydrophile Additive besitzen anorganische Salze (z.B. LiBr) auf die resultierende Membranstruktur und damit generell auf die Filtrationseigenschaften. Bei der Variation des LiBr-Anteils in der Dope-Lösung zwischen 0 - 4 w% zeigte sich eine kontinuierliche Änderung der Membranstruktur von einer anisotropen Fingerporenstruktur hin zu einer offenporigen Schwammstruktur (vgl. Abb. 5.8, Seite 81). Damit einhergehend veränderten sich die Wasserpermeabilität sowie der Dextranrückhalt. Der Grund für diesen Einfluss beruht auf einer Komplexierung der Lösungsmittelmoleküle durch die Li-Kationen durch eine Ion-Dipol-Wechselwirkung mit der Carbonylgruppe der Lösungsmittelmoleküle. Dies wiederum hat ein geringeres Lösungsvermögen von NMP für das Polymer zur Folge wodurch sich die Viskosität der Dope-Lösung auch durch die Bildung von Polymeraggregaten erhöht.<sup>[120]</sup> Mit steigendem Li-Gehalt nahm dementsprechend die Viskosität der Dope-Lösung stringent zu. Wie in Abb. 2.4 (Seite 15) dargestellt besitzt die Viskosität der Dope-Lösung einen Einfluss auf den Verlauf des Fällungsprozesses, wodurch unterschiedliche Membranstrukturen mit/ohne *Macro-Voids* resultieren. Durch den verlangsamten Fällungsprozess basierend auf einer hohen Viskosität der Dope-Lösung wird die Bildung von *Macro-Voids* unterdrückt, was in Abb. 6.2 Anhand von REM-Aufnahmen verdeutlicht wird.

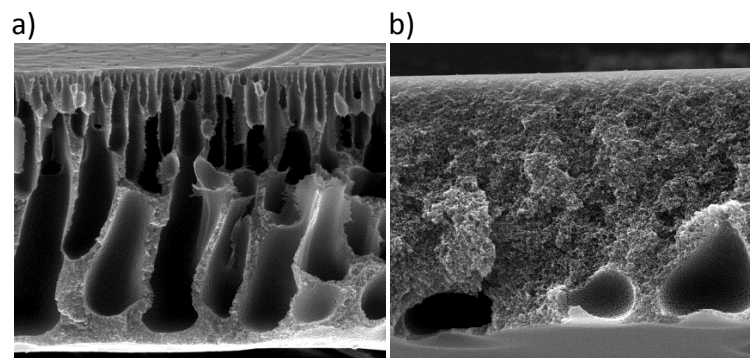


Abb. 6.2: Resultierende Membranstruktur bei der Verwendung von a) 0 w% Li; b) 4 w% Li.

Durch die Variation des LiBr Gehaltes der Dope-Lösung erfolgte gleichzeitig eine Änderung des NMP Anteils, damit die Zusammensetzung der Lösung nach wie vor 100 % betrug. Durch den veränderten NMP Gehalt veränderte sich somit ebenfalls das Mischungsverhältnis der beiden Lösungsmittel zueinander (NMP zu Aceton), da der Anteil von Aceton permanent bei 9 w% gehalten wurde. Um zusätzlich zu klären, ob die unterschiedlichen Mischungsverhältnisse der beiden Lösungsmittel ebenfalls einen Einfluss auf die dynamische Viskosität der Dope-Lösung besitzen, wurde die dynamische Viskosität der verschiedenen NMP/Aceton Mischungen bestimmt.

Tab. 6.1: Dynamische Viskosität der NMP/Aceton Mischungen bei 20 °C.

| NMP/Aceton [w%]        | 65-9    | 66-9    | 67-9    | 68-9    | 69-9    |
|------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| dyn. Viskosität [Pa s] | 0,00130 | 0,00132 | 0,00132 | 0,00130 | 0,00170 |
| Stabwn                 | 0,00027 | 0,00026 | 0,00024 | 0,00013 | 0,00016 |

Die unterschiedlichen NMP/Aceton Mischungen besitzen annähernd die gleiche Viskosität, wobei ein Unterschied erst ab der vierten Nachkommastelle auftritt. Unter Berücksichtigung der Tatsache das die dynamische Viskosität aller Dope-Lösung immer um mindestens drei Größenordnungen größer war (4,5 - 13,6 Pa s) spielen die unterschiedlichen NMP/Aceton Mischungen keine Rolle bei der veränderten Viskosität der Dope-Lösungen. Demzufolge ist der starke Anstieg der Viskosität rein auf den Gehalt des zugesetzten LiBr zurückzuführen.

### 6.3.3 Reproduzierbarkeit der Membranherstellung

Besonders unter dem Aspekt einer industriellen Anwendung ist die Reproduzierbarkeit einer Membran unumgänglich und wird auch in der vorliegenden Arbeit diskutiert.

Bei der Überprüfung der ortsabhängigen Reproduzierbarkeit bzw. Homogenität von 10 gerakelten Basismembranen mit Hilfe des gemessenen Dextran 10 kDa Rückhaltes (Tab. 5.4, Seite 83) konnten keine signifikanten Unterschiede evaluiert werden. Dies ist besonders unter Berücksichtigung der Herstellungszeit (ca. 30 s) und der damit unterschiedlich langen Expositionszeit der verschiedenen Membranareale an Luft positiv zu bewerten. Eine mögliche ortsabhängige Inhomogenität hätte dabei durch ein unterschiedlich starkes Verdampfen des Lösungsmittels Aceton aus der Protomembran bedingt durch die unterschiedlich lange Expositionszeit verursacht werden können.

Bei der ebenfalls durchgeführten Untersuchung der Reproduzierbarkeit der Membranherstellung an verschiedenen Tagen mit jeweils neu angesetzten Dope-Lösungen konnte ebenfalls die Reproduzierbarkeit der Basismembran nachgewiesen werden (Abb. 5.11, Seite 84). Der Rückhalt von Dextran 10 kDa nahm außer bei einer Probe einen Wert von  $70 \pm 2 \%$  an. Einzig bei Membranen welche im März 2012 produziert wurden lag der Dextranrückhalt bei  $81 \pm 5 \%$ . Dies stellte jedoch eine Abweichung im positiven Sinn dar, da ein Cut-Off von 5 kDa angestrebt wurde und die 5 kDa PES Referenzmembran von der Firma Sartorius Stedim Biotech einen Dextran 10 kDa Rückhalt von ca. 98 % besaß.

Bei der abschließenden Ermittlung der Größenausschlussgrenze einer Membran mit einem Dextran 10 kDa Rückhalt von ca. 70 % resultierte ein *Cut-Off* von 8,1 kDa, sodass die gesetzte Zielvorgabe von 5 kDa nur unwesentlich überschritten wurde.

Die gewählten Bedingungen während der Membranherstellung sowie die einfache Durchführung ermöglichen somit auch eine Hochskalierung zur Herstellung größerer Membranflächen im industriellen Maßstab.

Wenngleich auch die Reproduzierbarkeit der Basismembran bei der Bestimmung des Dextranrückhaltes gegeben war, so wichen die ermittelten effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten jedoch um bis zu 22 % voneinander ab. Dies kann jedoch mit den unterschiedlichen Größenordnungen der Testsubstanzen erklärt werden. Während der Moleküldurchmesser bei den verwendeten Dextranen im einstelligen Nanometerbereich liegt, beträgt der hydrodynamische Radius von Kalium-Kationen lediglich 330 pm, wodurch sich unvermeidbare leichte Schwankungen der Porengrößenverteilung bzw. der Oberflächenporosität bei den kleineren Kalium-Kationen stärker auswirken als bei den größeren, langkettigen Dextranmolekülen.

## 6.4 Membranfunktionalisierung

### 6.4.1 Membranmodifizierung mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht

#### 6.4.1.1 Funktionalisierungsgrad

Die ersten Experimente zur Membranmodifizierung mit einer amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht beinhalteten die Variation der Gesamtmonomerkonzentration und den damit verbundenen Einfluss auf den Funktionalisierungsgrad (DG-Wert). Es zeigte sich, dass bei einer Verwendung von reinem AMPS bzw. DMAPAA der DG-Wert von AMPS um den Faktor 6 kleiner ist als der von DMAPAA (vgl. Abb. 5.13, Seite 86). Dieses Ergebnis kann auf das stark negative Oberflächenzeta potential der unmodifizierten Basismembran sowie der vorhandenen negativen Ladungen der solvatisierten AMPS Monomere ( $pK_s$ -Wert = 2,7) zurückgeführt werden. Damit einhergehende dominierende repulsive elektrostatische Wechselwirkungen erschweren die Diffusion von AMPS Monomeren in die *Grafting*-Zone wodurch auch eine Kettenfortpflanzung beeinträchtigt ist.

Dem gegenüber können in Lösung befindliche DMAPAA Moleküle, welche über eine positive Ladungen an der endständigen Amingruppe verfügen, leicht in die *Grafting*-Zone diffundieren und eine Polymerisationsreaktion eingehen. Neben einer elektrokinetischen Begründung der besseren Pfropfeigenschaften von DMAPAA können diese auch durch

Radikal-/Kettenübertragungsreaktionen erklärt werden. Diese sind aufgrund der in Nachbarschaft zur *tert.*-Amingruppe befindlichen, schwach gebundenen Wasserstoffatome möglich und würden eine beschleunigte Anlagerung von weiteren DMAPAA Molekülen an freie Oberflächenplätze bzw. an Polymerketten, die bereits ein Radikal tragen, begünstigen. Die Abb. 6.3 beinhaltet dabei eine schematische Darstellung einer möglichen Radikalübertragungsreaktion.

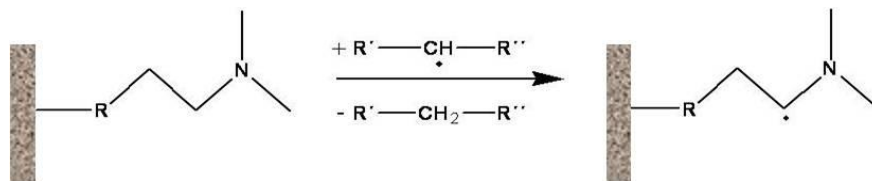


Abb. 6.3: Schematische Darstellung einer möglichen Radikalübertragungsreaktion von DMAPAA (R = Rest der Kette).

Wird jedoch eine 1/1 Mischung von AMPS und DMAPAA verwendet, ist der DG-Wert bei gleicher Belichtungszeit (15 min) etwa um den Faktor 2,5 größer als bei den einzelnen Monomeren. Die sich ändernden Ladungsverhältnissen in Lösung verbunden mit der bevorzugten Pfropfung von DMAPAA führt zu einer deutlich positiveren netto Ladung der Membranoberfläche und zu einer Konzentrationserniedrigung von DMAPAA in der Lösung, was wiederum die Diffusion von AMPS in die *Grafting*-Zone begünstigt. Dadurch ergibt sich ein ansteigender Funktionalisierungsgrad mit steigender Belichtungszeit und Monomerkonzentration bis zu einer Konzentration von 150 mM welcher anschließend wieder absinkt. Der Effekt eines reduzierten DG-Wertes mit steigender Monomerkonzentration wurde dabei bereits in der Literatur beschrieben und kann auf eine Zunahme der Viskosität der Lösung und einer vermehrten Homopolymerisation von Monomermolekülen in Lösung zurückgeführt werden.<sup>[135,136]</sup> Durch eine Erhöhung der Viskosität wird zum Einen die Diffusion der Monomere hin zur *Grafting*-Zone geringer und zum Anderen ist auch eine tiefere Modifizierung in den Porenwänden behindert.

#### 6.4.1.2 Kontaktwinkel

Korreliert man die DG-Daten mit den ermittelten Kontaktwinkeln der modifizierten Membranen (vgl. Abb. 5.14, Seite 87), ergibt sich ein ähnlicher Trend. Mit steigender Belichtungszeit und Monomerkonzentration wird der Kontaktwinkel kontinuierlich kleiner. Dies ist gleichbedeutend mit einer verbesserten Hydrophilie der Membranoberfläche. Eine Diskrepanz besteht jedoch bei den Resultaten bei der Verwendung einer Gesamtmonomerkonzentration von 200 mM DMAPAA/AMPS. Während die erhaltenen DG-Werte auf einen Rückgang der Funktionalisierung hindeuten, weisen die Kontaktwinkel hingegen eine gesteigerte Hydrophilie der Oberfläche auf. Ein möglicher Grund für dieses Resultat ist eine höhere Bedeckung bzw. *Grafting-Dichte* der Membranoberfläche bei höheren Konzentrationen (200 mM) mit gleichzeitig kürzeren Polymerketten. Dies könnte auf vermehrte Radikalübertragungsreaktionen zurückzuführen sein, welche zu einem vermehrten Kettenabbruch führen. NAGASE *et.al.* beschreibt die Variation der Kettenlänge von *p*NIPAAm auf einem Glassubstrat in Abhängigkeit der *Grafting-Dichte*. Dabei wurde eine Abnahme der Kettenlänge bei steigender *Grafting-Dichte* beobachtet.<sup>[137]</sup> Des Weiteren ist eine verminderte Modifizierung an den Porenwänden denkbar, welche durch eine gesteigerte Viskosität in Folge der hohen Konzentration bedingt ist und zu geringeren DG-Werten bei gleichzeitiger stärkerer Oberflächenbedeckung führen würde.

Um bewertende Aussagen über den Einfluss des Funktionalisierungsgrades auf den Kontaktwinkel und damit auf die angestrebte Verbesserung der *Anti-Fouling* Eigenschaften treffen zu können, wurde in Abb. 6.4 der vermessene Kontaktwinkel gegen den jeweiligen Funktionalisierungsgrad der Membran aufgetragen.



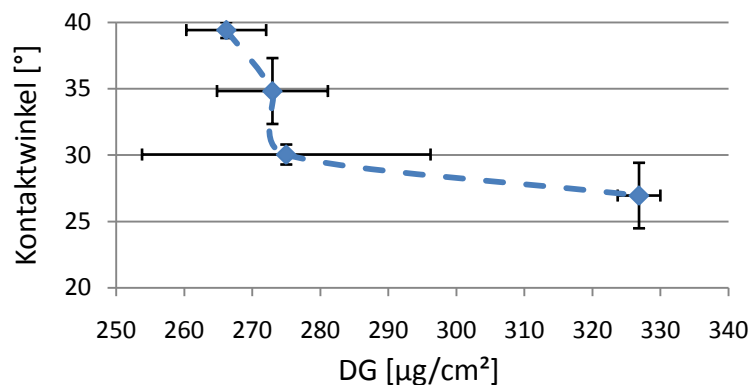


Abb. 6.4: Kontaktwinkel vs. DG-Wert der Modifikationen 100 mM/15 min; 100 mM/25 min; 150 mM/ 15 min; 150 mM-25 min.

Mit Hilfe der Daten aus Abb. 6.4 erkennt man, dass der Kontaktwinkel nicht linear mit steigendem DG-Wert abnimmt, sondern sich asymptotisch einem Grenzwert maximaler Hydrophilie annähert. Dies würde bedeuten, dass eine weitere Erhöhung des Funktionalisierungsgrades bei kleinen Kontaktwinkeln eine geringere Wirkung erzielen würde, als bei vergleichsweise höheren Kontaktwinkeln.

#### 6.4.1.3 Zetapotential

Die korrespondierenden Zetapotentialverläufe der verschiedenen Modifizierung der Sartorius 5 kDa Membranen mit den 1/1 Mischungen von DMAPAA/AMPS (vgl. Abb. 5.15, Seite 88) liegen zwischen den Verläufen von reinem AMPS bzw. DMAPAA. Somit bilden die Zetapotentialverläufe der beiden einzeln gegrafteten Monomere die Ober- bzw. Untergrenze bei der Lage des isoelektrischen Punktes. Bei der Modifizierung der Membran mit reinem AMPS besitzt der dazugehörige Zetapotentialverlauf einen größeren IEP und generell höhere Absolutwerte als eine unmodifizierte Sartorius 5 kDa Membran. Dies ist insofern verwunderlich, da AMPS eine endständige Sulfonsäuregruppe besitzt, welche im wässrigen Milieu deprotoniert vorliegt und somit negative Ladungsträger auf der Membran vorhanden sind. Darüber hinaus liegt der IEP dieser Kompositmembran mit  $\sim 3,8$  oberhalb des  $pK_s$  Wertes der Sulfonsäuregruppe von 2,7. Gleichzeitig beträgt der Funktionalisierungsgrad dieser Kompositmembran  $17 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , sodass nur eine geringe Stoffmenge an AMPS auf der Membranoberfläche gepfropft wurde, was eine mögliche Ursache für das beobachtete Phänomen darstellen kann. Bei

vergleichbaren Arbeiten von BERNSTEIN und ULBRICHT bei einem UV-grafting von Vinylsulfonsäure auf einer 30 kDa PES UF-Membran resultiert hingegen eine Erniedrigung des Zetapotential nach erfolgter Modifizierung im Vergleich zur unmodifizierten PES Membran.<sup>[138,139]</sup> Gleichzeitig konnten allerdings bei diesen Arbeiten Funktionalisierungsgrade von mehreren 100 µg/cm<sup>2</sup> realisiert werden, was im starken Widerspruch zu den ermittelten 17 µg/cm<sup>2</sup> der vorliegenden Arbeit steht. Eine Erklärung für diese Diskrepanz liefert die 10 mal größere UV-Intensität und die damit einhergehende größere Pfropfungsdichte sowie die Verwendung eines Quervernetzers während der UV-Modifizierung.

Generell konnte der angestrebte IEP von 7,4 der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht nicht durch die Verwendung einer 1/1 DMAPAA/AMPS Mischung realisiert werden. Der IEP der Kompositmembranen, welche mit der Monomerkonzentration von 150 mM hergestellt wurden, war zu gering, sodass eine schrittweise Änderung des Monomerverhältnisses zu 53/47 mol% DMAPAA/AMPS bei einer Belichtungszeit von 25 min letztendlich den gewünschten Erfolg und einen IEP von 7,4 erbrachte.

Bei der ebenfalls durchgeführten Testreihe mit Kompositmembranen mit eingestelltem isoelektrischem Punkt und variiertem Größenausschlussgrenze (Abb. 5.52, Seite 123) konnte der Effekt ermittelt werden, dass mit steigender Belichtungszeit der IEP ebenfalls zu höheren pH-Werten driftete. Einzige Ausnahme bildeten dabei die modifizierten Sartorius 5 kDa Membranen, bei welchen ein alternierender Verlauf vorlag. Diese Tatsache lässt den Schluss zu, dass die unterschiedliche Pfropfung der beiden Monomere kinetischen Einflüssen unterliegt, wobei makroskopisch betrachtet mit steigender Belichtungszeit vermehrt DMAPAA in die amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht gepfropft wird. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt mit steigendem Porenradius der verwendeten Membranen kleiner wird. So steigt der IEP bei den modifizierten Sartorius 1 kDa Membranen von pH 4,4 auf pH 6,2, wohingegen bei den modifizierten Sartorius 300 kDa Membranen der IEP nur von pH 6,6 auf pH 6,9 ansteigt.

Es können vor allem zwei Gründe für die vermehrte Polymerisation von DMAPAA genannt werden. Zum Einen beträgt die Molmasse von DMAPAA mit 156,23 g/mol nur  $\frac{1}{4}$  der Molmasse von AMPS (207,25 g/mol) und zum Anderen dominieren attraktive elektrostatische Wechselwirkungen zwischen dem entgegengesetzt geladenem solvatisiertem DMAPAA und der Membranoberfläche. Beides führt im direkten Vergleich zum AMPS zu einer schnelleren Diffusion von DMAPAA in die *grafting*-Zone.

Dem gegenüber steht wiederum die Tatsache, dass eine vermehrte Pfropfung von DMAPAA zu einer Verschiebung des Verhältnisses der beiden Monomere in der Lösung führt und somit mehr AMPS als DMAPAA in der Lösung vorhanden ist. Dies hätte zur Folge, dass mit steigender Belichtungszeit vermehrt AMPS auf der Membran gepfropft werden könnte. Ein solcher Effekt konnte jedoch anhand der durchgeführten Experimente nicht nachgewiesen werden.

Der verringerte Effekt der Belichtungszeit auf die Lage des IEPs mit steigendem *Cut-Off* der Membranen kann durch das Verhältnis von Masse des Polymers zur Oberfläche erklärt werden. Mit steigendem Porenradius nimmt das Verhältnis von Polymermasse / äußere Oberfläche ab, wodurch weniger Radikale an der Oberfläche gebildet werden können. Dies würde eine geringere Pfropfung beider Monomere bedeuten und gleichzeitig den Effekt der stärkeren Polymerisation von DMAPAA zu AMPS abschwächen, wodurch die Variation des IEPs geringer wird.

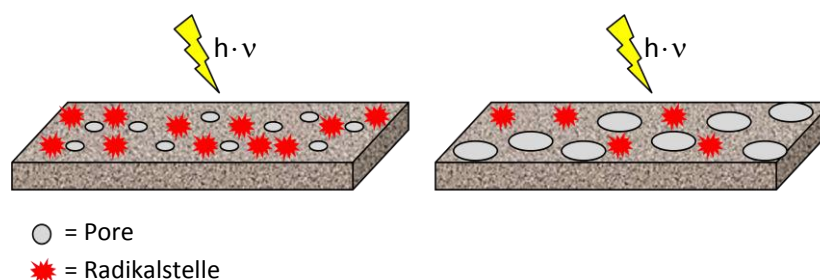


Abb.6.5: Schematische Darstellung des Einflusses der Porengröße auf die Radikaldichte.

Gestützt wird diese Erklärung durch die Arbeit von MOHY ELDIN *et.al.*, welcher eine verringerte Pfropfung von Diethylenglycoldimethacrylat mit steigender Porengröße der verwendeten Nylonmembran erfasste.<sup>[140]</sup> Es soll an dieser Stelle jedoch darauf

hingewiesen werden, dass keine Bestimmung des DG-Wertes in Abhängigkeit der Belichtungszeit für die verschiedenen Membranen durchgeführt wurde. Demzufolge kann dieser Erklärungsansatz weder bestätigt noch widerlegt werden.

#### **6.4.2 Übertragbarkeit der Membranfunktionalisierung von Sartorius 5 kDa auf selbstproduzierte Membranen**

Die vollständige Übertragbarkeit der IEP Einstellung von modifizierten Sartorius 5 kDa Membranen auf die selbst produzierten Membranen konnte in dieser Arbeit gezeigt werden (vgl. Abb. 5.17 und 5.18, Seite 90 und 91). Darüber hinaus konnte eine mehrmalige Reproduzierbarkeit dieses Ergebnisses erzielt werden. Die Tatsache, dass die gleichen *grafting*-Bedingungen auf zwei Membranen zu den gleichen Zetapotentialeergebnissen führen unterstreicht die wesentliche Rolle der Oberflächenbeschaffenheit bei einem UV initiiertem *grafting*. Da die Porengrößenverteilung der trennselektiven Oberflächenschicht der beiden Membranen nur geringfügig variiert (*Cut-Off* Sartorius = 5 kDa; selbst produzierte Membran = 8,1 kDa), konnte eine vergleichbare Zusammensetzung des DMAPAA/AMPS Copolymers erwartet werden, wobei der IEP eine Schwankung von  $7,4 \pm 0,1$  aufwies. Diese Übertragbarkeit des *Grafting*-Resultates wurde bei der Erstellung des Konzeptes dieser Arbeit vorhergesagt, wodurch bei der Entwicklung der Hydrogel-Kompositmembran eine enorme Zeitersparnis erzielt werden konnte.

Die beiden hergestellten Hydrogel-Kompositmembranen unterscheiden sich jedoch in ihren Filtrationseigenschaften. Bei der Ermittlung des Kaliumflusses durch die Membranen besitzen die modifizierten und unmodifizierten selbst produzierten Membranen einen größeren Fluss als die vergleichbaren modifizierten und unmodifizierten Sartorius 5 kDa Membranen. Dies kann auf die geringere gesamte Membrandicke der selbst produzierten Membranen (45  $\mu\text{m}$ ) und der damit kürzeren Wegstrecke zurückgeführt werden, da die Sartorius Membran ca. 125  $\mu\text{m}$  dick ist. Wird jedoch der effektive Kaliumdiffusionskoeffizient ermittelt, so ergibt sich genau der entgegengesetzte Fall. Hierbei zeigt nun die Sartorius 5 kDa Membran die größeren Werte auf (vgl. Abb. 5.22, Seite 94). Diese Tatsache kann auf eine geringere

Oberflächenporosität und eine dickere trennselektive Oberflächenschicht der selbstproduzierten Membran zurückgeführt werden.

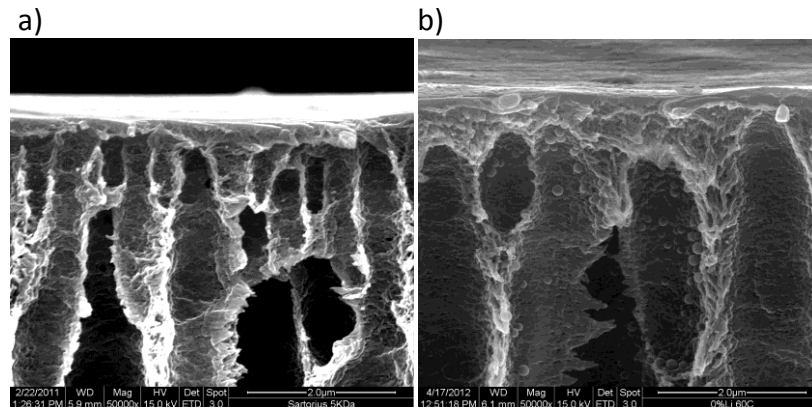


Abb. 6.6: REM Aufnahme der trennselektiven Oberflächenschicht. a) Sartorius 5 kDa; b) selbst produzierte Membran. Vergrößerung je 50.000.

Die REM Aufnahmen in Abb. 6.6 zeigen, dass die Dicke der trennselektiven Oberflächenschicht der selbst produzierten Membran ca. 600 - 700 nm beträgt, wohingegen die gleiche Schicht bei der Sartorius 5 kDa Membran nur ca. 250 - 300 nm dick ist. Da ein effektiver Diffusionskoeffizient als ein normierter Fluss betrachtet werden kann (normiert auf die gesamte Membrandicke und den angelegten Konzentrationsgradienten), resultiert der geringere Kaliumdiffusionskoeffizient bei der selbst produzierten Membran entsprechend dem Widerstandsmodell aus der wesentlich dickeren trennselektiven Schicht. Diese Tatsache wird auch durch die ermittelten Wasserpermeabilitäten der beiden Membranen untermauert. Während die Wasserpermeabilität der Sartorius 5 kDa Membran ca. 16 - 20 L/h m<sup>2</sup> bar beträgt, verfügt die selbst produzierte Membran nur über eine Permeabilität von ca. 11 - 15 L/h m<sup>2</sup> bar.

Bei einem direkten Vergleich der erhaltenen isoelektrischen Punkte der modifizierten Sartorius 5 kDa Membranen und der selbst produzierten Membranen bei der Variation der Belichtungszeit (siehe Abb. 5.52, Seite 123) ist hingegen ersichtlich, dass die gleichen *grafting*-Bedingungen dieses Mal zu unterschiedlichen isoelektrischen Punkten führten. Dieses Ergebnis steht damit im direkten Widerspruch zu der eben beschriebenen erfolgreichen Übertragbarkeit des Pfropfungsergebnisses von der Sartorius 5 kDa

Membranen auf die selbst produzierte Membran (siehe Abb. 5.18, Seite 91). Andererseits weichen die isoelektrischen Punkte der modifizierten Sartorius 5 kDa Membranen aus Abb. 5.52, (Seite 123) als einzige von dem allgemeinen Trend der Erhöhung des IEPs mit steigender Belichtungszeit ab, was eingangs bereits diskutiert wurde. Weiterhin gab es zum Zeitpunkt der Durchführung dieser IEP Testreihe Probleme mit der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Als Ursache konnte die verstrichene Lebensdauer des UV-Strahlers aus der UV-Belichtungskammer ausgemacht werden. Es lag eine starke lokale sowie zeitliche Schwankung der Strahlungsintensität vor, wodurch unterschiedliche *grafting*-Ergebnisse von Membran zu Membran nicht ausgeschlossen werden können, welche einen direkten Einfluss auf die Lage des IEPs besitzen. Da ferner die Durchführung dieser IEP Testreihe zum Ende der Promotionszeit erfolgte, konnte auch durch die starke Frequentierung des Zetapotentialmessgerätes keine erneute Wiederholung dieser Testreihe nach dem Wechsel des UV-Strahlers durchgeführt werden.

Durch diesen Sachverhalt wird die Brisanz der abweichenden Ergebnisse der modifizierten Sartorius 5 kDa und der selbst produzierten Membranen aus Abb. 5.52 (Seite 123) verringert. Eine Abweichung des *grafting*-Ergebnisses zwischen zwei vergleichbaren Membranproben mit gleichen Oberflächeneigenschaften und gleicher Porengrößenverteilung (wie sie bei den selbst produzierten Membranen und den Sartorius 5 kDa Membranen vorliegen) kann auf Basis der chemisch ablaufenden Prozesse während des *Graftings* nicht erwartet werden. Demzufolge wird weiterhin von der Richtigkeit der Ergebnisübertragbarkeit aus Abb. 5.18 (Seite 91) ausgegangen.

### **6.4.3 Membranmodifizierung mit zusätzlicher Anti-Fouling Schicht**

#### **6.4.3.1 Funktionalisierungsgrad**

Bei der Pfropfung der zusätzlichen Anti-Fouling Schicht bestehend aus *p*SPP konnte eine eindeutige Abhängigkeit des Pfropfungsergebnisses von der Photoinitiatorkonzentration und der Belichtungszeit identifiziert werden (vgl. Abb. 5.28, Seite 101). So stieg der Funktionalisierungsgrad mit steigender Photoinitiatorkonzentration und Belichtungszeit kontinuierlich an. Somit entsprach dieses Ergebnis den Erwartungen, dass mit steigender Initiatorkonzentration mehr Radikale gebildet werden können, wodurch gleichzeitig bei

einer längeren Belichtungszeit mehr/längere Polymerketten gebildet werden können. Jedoch ergab sich mit einem maximalen DG-Wert von  $28 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (200 mM SPP; 10 mM PI; 25 min Belichtungszeit) ein um den Faktor 5 geringerer Wert als bei der Copolymerisation von DMAPAA/AMPS bei vergleichbarer Monomerkonzentration und Belichtungszeit. Dies kann auf den in Abb. 2.14, (Seite 32) beschriebenen Mechanismus während der Modifizierung zurückgeführt werden. Hierbei werden die Radikale durch den Zerfall des dimolekularen Übergangszustandes bestehend aus der *tert.* Amingruppe von DMAPAA und dem Photoinitiator gebildet und nicht durch die direkte Spaltung des Membranpolymers. Dadurch können bei vergleichbaren Belichtungszeiten weniger Radikale gebildet werden, sodass eine geringere Pfropfung von *p*SPP im Vergleich zur ersten Modifizierung erfolgt.

#### 6.4.3.2 Kontaktwinkel

Auffälligstes Merkmal bei den durchgeführten Kontaktwinkelmessungen war die Tatsache, dass der Kontaktwinkel der zweifach modifizierten Kompositmembran um bis zu  $20^\circ$  größer war als der Kontaktwinkel der einfach modifizierten Kompositmembran (vgl. Abb. 5.29, Seite 102). Eine Beschreibung für dieses Phänomen liefert die Struktur des eingesetzten *p*SPPs. Die geringere Affinität der zweifach funktionalisierten Oberfläche gegenüber Wasser basiert auf der Überlagerung der hydrophilen Eigenschaften der Amin- und Sulfonsäuregruppe im SPP-Molekül durch den hydrophoben Charakter der beiden Propylketten zwischen den beiden funktionellen Gruppen.<sup>[141]</sup> Gestützt wird diese Erklärung auch durch die oben beschriebenen DG-Werte, da der Kontaktwinkel entsprechend der steigenden DG-Werte für *p*SPP ebenfalls zunimmt und ein Maximum bei einer Initiatorkonzentration von 5 mM und einer Belichtungszeit von 25 min einnimmt. Bei der Verwendung von 10 mM des Photoinitiators fällt der Kontaktwinkel wiederum leicht ab.

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass der Kontaktwinkel der zweifach modifizierten Kompositmembranen nach den durchgeführten FBS *Fouling*-Experimenten kleiner war als vor dem *Fouling*-Experiment. Dies ist gleichbedeutend mit einer erhöhten Hydrophilie der Membranoberfläche nach dem FBS-*Fouling*. Eine mögliche Begründung

der verbesserten Hydrophilie der gefaulten Kompositmembranen beruht auf der Hypothese, dass die in der FBS-Lösung enthaltenen amphiphilen Proteine mit dem hydrophoben Teil an die Membran adsorbieren, während der hydrophile Teil nach außen zeigt. Dadurch ergibt sich eine hydrophilere Membranoberfläche. Jedoch ist eine solche gerichtete Adsorption nur bei einer unvollständigen Bedeckung der Membranoberfläche möglich. Der hohe DG-Wert der ersten Membranmodifizierung deutet jedoch auf eine vollständige Bedeckung der Membranoberfläche hin. Dies wird durch die erhaltenen niedrigeren Kontaktwinkel (siehe Abb. 5.14, Seite 87) und dem gänzlich unterschiedlichen Zetapotential (siehe Abb. 5.18, Seite 91) untermauert. Die geringen Funktionalisierungsgrade der zweiten Modifizierung welche in Kap. 6.4.3.1 diskutiert wurden deuten jedoch auf eine unvollständige Bedeckung der Membranoberfläche mit der zweiten Modifizierungsschicht hin.

#### 6.4.3.3 Zetapotential

Die Zetapotentialverläufe der zweifach modifizierten Kompositmembranen (vgl. Abb. 5.30, Seite 103) ergeben den einheitlichen Trend, dass der IEP mit steigender PI-Konzentration und mit steigender Belichtungszeit zu immer niedrigeren pH-Werten driftet und somit dem Anstieg der DG-Werte der zweiten Modifizierungsschicht entspricht. Eine mögliche Erklärung für dieses Ergebnis kann auf der Tatsache beruhen, dass insgesamt eine segregierte Struktur vorliegt. Auf der ca. 100 nm dicken ersten Modifizierungsschicht würde die dünnere zwitterionische *p*SPP-Schicht entsprechend dem Mechanismus aus Abb. 2.14 (Seite 32) gepropft werden. Dabei wird eine kovalente Bindung nur zu der *tert.*-Amingruppe des DMAPAA gebildet. Damit könnte eine „Blockierung“ dieser funktionalen Gruppe erfolgen, wodurch mit steigendem DG-Wert der *p*SPP-Schicht immer mehr *tert.*-Amingruppen der amphoteren Hydrogelschicht blockiert werden und das Oberflächenzetapotential immer stärker netto negativ erscheint.



## 6.5 Barriereigenschaften der Kompositmembranen

Die Barriereigenschaften der hergestellten Kompositmembranen beruhen auf einer Kombination von Größen- und Ladungsselektivität. Der *Cut-Off* der ausgewählten Kompositmembranen konnte dabei von 8,1 kDa für die unmodifizierte selbst produzierte Basismembran auf 5,4 kDa für die zweifach modifizierte Kompositmembran abgesenkt werden und entspricht damit auch der Zielvorgabe von einem 5 kDa *Cut-Off*. Gleichzeitig konnte mit Hilfe der Siebkurven in Abb. 5.34 (Seite 108) gezeigt werden, dass die Steigung der Siebkurve mit steigendem Modifizierungsgrad zunimmt, was wiederum mit einer gesteigerten „Trennschärfe“ verknüpft ist.

Die Pfropfung der beiden übereinander gelagerten Hydrogelschichten wirkte sich dabei nicht negativ auf die ermittelte Kaliumdiffusion aus. Dies galt auch für die Diffusion nach erfolgten FBS *Fouling*-Experimenten. Wie der Abb. 5.32 (Seite 105) entnommen werden kann, gab es keine signifikante Reduktion der Kaliumdiffusion der hergestellten Kompositmembranen im Vergleich zu der unmodifizierten Basismembran. Dies kann über das Verhältnis der Maschenweite und der Struktur der Hydrogelschicht bzw. des Porenradius der Membran zu dem hydrodynamischen Radius von Kalium-Kationen erklärt werden. Der hydrodynamische Radius von Kalium-Kationen beträgt 330 pm, wohingegen die berechnete Maschenweite eines Bulkhydrogeles mit 2,5 w/w% MBAA etwa 12 nm beträgt und der mittlere Porendurchmesser der trennselektiven Oberflächenschicht bei wenigen Nanometern liegt. An dieser Stelle sei noch einmal darauf hingewiesen, dass die amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht über keinen Crosslinker verfügt, sodass hierfür keine Maschenweite ausgerechnet werden konnte. Aus diesem Grund muss auf die Maschenweite eines Bulkhydrogels mit 2,5 w/w% MBAA verwiesen werden. Im Vergleich dieser Maschenweite zum hydrodynamischen Radius von Kalium-Kationen erkennt man, dass diese etwa um den Faktor 36 größer ist als das Kalium-Kation, wodurch keine zusätzliche Beeinträchtigung der Kaliumdiffusion vorliegt. Darüber hinaus muss angemerkt werden, dass bei der unvernetzten Hydrogelschicht eine „Bürstenstruktur“ der Polymerketten vorliegt und nicht wie bei dem quervernetzten Bulkhydrogel ein dreidimensionales Netzwerk. Eine Maschenbildung ist somit nur aufgrund von

physikalischer Verschlaufung der Polymerketten möglich. Somit besitzt die trennselektive Oberflächenschicht der Membran weiterhin den größten Widerstand für die Diffusion, wodurch keine signifikanten Unterschiede zwischen den modifizierten und unmodifizierten Membranen für die Kaliumdiffusion existieren.

Bei den durchgeführten Kaliumdiffusionsmessungen in Abhängigkeit des pH-Wertes konnte sogar der positive Effekt der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht nachgewiesen werden. Bei der Einstellung des pH-Wertes auf 7,4 während der Kaliumdiffusion konnte gezeigt werden, dass der effektive Kaliumdiffusionskoeffizient bei diesem pH-Wert den größten Wert besaß und bei einem pH-Wert von 6 bzw. 8,8 verringert war. Dieser Einfluss des pH-Wertes auf die Kaliumdiffusion kann mit der vorherrschenden netto Ladung der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht begründet werden. Bei einem pH-Wert von 7,4 besitzt die Hydrogelschicht eine netto neutrale Oberflächenladung, wodurch die repulsiven Membran-Ion Wechselwirkungen nicht dominieren bzw. reduziert werden. Bei pH 6 besitzt die Kompositmembran eine netto positive Ladung, wodurch verstärkt repulsive Membran-Ion Wechselwirkungen auftreten und infolge dessen die Kaliumdiffusion auf 82 % im Vergleich zu pH 7,4 verringert ist. Bei einem pH-Wert von 8,8 besitzt die Kompositmembran hingegen eine netto negative Ladung. Dadurch werden repulsive Membran-Ion Wechselwirkung mit den Chlorid-Ionen in der Lösung induziert, welche somit auch für die Kaliumdiffusion den limitierenden Faktor darstellen. Aufgrund der einzuhaltenden Ladungsneutralität in Lösung kann nur die gleiche Stoffmenge an Kalium-Ionen wie Chlorid-Ionen durch die Membran diffundieren, wodurch auch bei diesem pH-Wert die Kaliumdiffusion auf 86 % im Vergleich zu pH 7,4 verringert ist.

Bei der Durchführung der gleichen Experimente mit einer unmodifizierten selbst präparierten PES Membran reduzierte sich das Zetapotential mit steigendem pH-Wert kontinuierlich. Dies ist mit dem geringen IEP der Basismembran von 2,8 zu begründen. Somit nahm die netto negative Oberflächenladung mit steigendem pH-Wert zu, was auch mit einer sukzessiven Reduktion der Kaliumdiffusion einhergegangen ist. Folglich hat die hergestellte amphotere Hydrogel-Kompositmembran bei einem pH-Wert von 7,4 (wie bei

der Anwendung im humanen Blutkreislauf) im Vergleich zur unmodifizierten Membran eine bessere Performance und ermöglicht so einen effektiveren Kaliumtransport durch die Membran.

Die Barriereigenschaften der Kompositmembranen sind jedoch nicht in der Lage zwischen verschiedenen Ionen zu separieren. Bei den durchgeführten kombinierten  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  Diffusionsmessungen konnten die Natriumkationen die Kompositmembranen genauso passieren wie die Kalium-Kationen. Zwar waren die ermittelten effektiven Natrium Diffusionskoeffizienten kleiner als die für Kalium, jedoch entsprach dies den Erwartungen und kann auf den größeren hydrodynamischen Radius von Natrium (360 pm) zurückgeführt werden. Der Ionenradius von Natrium ist zwar kleiner als der von Kalium, dadurch wird aber die vorhandene positive Ladung auf einer kleineren Oberfläche verteilt. Das stärkere elektrische Feld führt wiederum dazu, dass eine größere Hydrathülle aufgebaut wird.<sup>[9]</sup> Aus diesem Grund ist der hydrodynamische Radius von Natrium-Kationen größer als von Kalium-Kationen.

Bei der Betrachtung der Daten der kombinierten  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  Diffusionsmessungen (vgl. Abb. 5.44, Seite 116) hätte man prinzipiell erwarten können, dass der Kaliumdiffusionskoeffizient aus der Mischung bei den modifizierten Membranen größer ist als der Kaliumdiffusionskoeffizient aus der Einzelmessung. Mit steigender Salzkonzentration tritt entsprechend den Quellungsexperimenten der Bulkhydrogele (Tab. 5.6, Seite 96) und Ellipsometriemessungen (Abb. 5.24, Seite 97) eine größere Quellung der Hydrogelschicht auf, wodurch der Widerstand dieser Schicht reduziert wird. Gleichzeitig nimmt jedoch die Viskosität der Lösung aufgrund des größeren Salzgehaltes zu, wodurch eine solche Tendenz mit Ausnahme der zweifach modifizierten Membran nicht beobachtet werden konnte. Abschließend kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass bedingt durch die sehr großen Standardabweichungen keine eindeutige quantitative Aussage über die unterschiedliche Diffusion in Abhängigkeit von der Gesamtsalzkonzentration gemacht werden kann, wenngleich auch die hohe Natriumkonzentration keinen signifikanten negativen Einfluss auf die Kaliumdiffusion ausübt.

## 6.6 Oberflächeneigenschaften der Kompositmembranen

Bei der Beschreibung der Oberflächeneigenschaften der Kompositmembranen wird zunächst das Quellverhalten der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht diskutiert. Mit Hilfe der durchgeführten Ellipsometriemessungen konnte die Schichtdicke der gequollenen amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht auf einem PES beschichteten Si-Wafer unter Wasser bestimmt werden (vgl. Abb. 5.24, Seite 97). Dabei resultierte eine Schichtdicke von ca. 100 nm, welche auf bis zu 140 nm bei der Verwendung von Tyrode-Lösung angestiegen ist. Die stärkere Quellung der amphoteren Hydrogelschicht konnte dabei auf den anti-Polyelektrolyteffekt zurückgeführt werden.

Dennoch muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass nicht alle Proben vergleichbare Ergebnisse lieferten. Zwei von fünf Proben zeigten keinen anti-Polyelektrolyteffekt und verfügten nur über eine gemessene Schichtdicke von etwa 40 nm. Dies kann zweierlei Gründe haben: Zum einen konnten optisch sichtbare Inhomogenitäten der aufgetragenen PES-Schicht nach dem *spincoaten* bei diesen beiden Proben ausgemacht werden. Dies könnte zu einem unterschiedlichen *grafting* der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht geführt haben, sodass nicht die gesamte Fläche des Si-Wafers homogen modifiziert wurde. Zum anderen besaß der gewählte Messaufbau einen Schwachpunkt. Die Flüssigkeitszelle gehört zur Ausstattung des AK von Herrn Prof. Gutmann, während die Messung im AK von Herrn Prof. Buck in Duisburg durchgeführt wurde. Dies hatte zur Folge, dass die einzelnen Bauteile des Ellipsometers nicht 100 %ig aufeinander abgestimmt waren. Der emittierte Lichtstrahl traf mit einem Winkel von 70 ° auf die Messzelle, deren Seitenwände jedoch einen Winkel von 60 ° im Bezug zum Boden besaßen. Dadurch traf der Lichtstrahl nicht senkrecht auf das Quarzglasfenster und kann zu nicht erfassbaren Interferenzen geführt haben. Sollten Interferenzen zwischen emittiertem Lichtstrahl und dem Quarzglasfenster aufgetreten sein, würde dies jedoch zu einem systematischen Messfehler führen und sämtliche ermittelten Ergebnisse beeinflussen. Dies spricht gegen eine starke Interferenz und für die nicht optimale Probenpräparation.

Unter Berücksichtigung der drei übrigen Messergebnisse muss besonders positiv die Tatsache hervorgehoben werden, dass die gemessenen und berechneten Schichtdicken der amphoteren Hydrogelschicht übereinstimmen. Über die Bestimmung des Quellgrades von Referenz Bulkhydrogelen in dem jeweiligen Medium (Wasser, 10 mM KCl und TYRODE-Lösung) konnte durch Multiplikation mit der gemessenen trockenen Schichtdicke der modifizierten Si-Wafer die Schichtdicke der amphoteren Hydrogelschicht im gequollenem Zustand berechnet werden. Dabei muss angemerkt werden, dass bei der Ermittlung der Quellgrade der Bulkhydrogele die Quellung in allen drei Raumrichtungen erfolgt, während die gepfropfte Hydrogelschicht auf dem Si-Wafer nur eine gerichtete, zweidimensionale Quellung erfährt. Bei der Ermittlung des Quellgrades der Referenz Bulkhydrogele konnte darüber hinaus ebenfalls der anti-Polyelektrolyteffekt beobachtet werden.

Die *Fouling*-Beständigkeit der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht war mit einem  $R_f$ -Wert von etwa 0,6 fast doppelt so groß wie der einer unmodifizierten Basismembran. Durch das zusätzliche Pfropfen von zwitterionischem *p*SPP konnte die *Fouling*-Beständigkeit in Abhängigkeit der gewählten Photoinitiatorkonzentration und Belichtungszeit (respektive Funktionalisierungsgrad) erheblich gesteigert werden und nahm im Maximum sogar einen  $R_f$ -Wert von 1,35 an (vgl. Abb. 5.33, Seite 106). Es zeigen sich weiterhin zwei wesentliche Trends bei der *Fouling*-Beständigkeit der zweifach modifizierten Kompositmembranen. Primär wurde eine Abhängigkeit von der Photoinitiatorkonzentration deutlich. Bei Verwendung von höheren Konzentrationen ergaben sich deutlich größere  $R_f$ -Werte, wobei ein Maximum bei einer Initiatorkonzentration von 5 mM und einer Belichtungszeit von 15 min resultierte und bei weiterer Erhöhung wieder leicht abfiel. Sekundär zeigen sich bei den Membranen mit der gleichen Photoinitiatorkonzentration hingegen nur geringe Unterschiede bei Variation der UV-Belichtungszeit. Da die *Fouling*-Beständigkeit durch die Ermittlung der hydraulischen Wasserpermeabilität vor/nach dem *Fouling*-Experiment erfolgte, kann der leichte Rückgang der *Fouling*beständigkeit bei der Steigerung der Initiatorkonzentration von 5 auf 10 mM auf den vergrößerten Funktionalisierungsgrad zurückgeführt werden. Demnach wird kontinuierlich eine dichtere *p*SPP Schicht gebildet, wodurch der Transportwiderstand für Wasser sukzessive zunimmt.

Gleichzeitig bedeutet ein  $R_f$ -Wert größer 1 eine höhere Wasserpermeabilität nach dem *Fouling*-Experiment verglichen mit der Permeabilität vor dem Experiment. Ein möglicher Grund wurde bereits in Kap. 6.4.3.2 genannt und beruht auf der gerichteten Adsorption der amphiphilen Proteine aus der FBS-Lösung, sodass eine hydrophilere Membranoberfläche resultiert. Dies korreliert gut mit den erniedrigten Kontaktwinkeln der gefoulten Membranproben. Weiterhin ist es möglich, dass sich die Proteine aus der FBS-Lösung in die aufgepfropfte Hydrogel-Schicht einlagern. Dadurch könnten sich die Abstände zwischen den Polymerketten erhöhen, wodurch Kanäle gebildet werden. Dies hätte eine vergrößerte Wasserpermeabilität zur Folge. Durch die Einlagerung der Proteine würde folglich auch die Heterogenität der Modifizierungsschicht erhöht. Dies ist schematisch in Abb. 6.7 dargestellt.

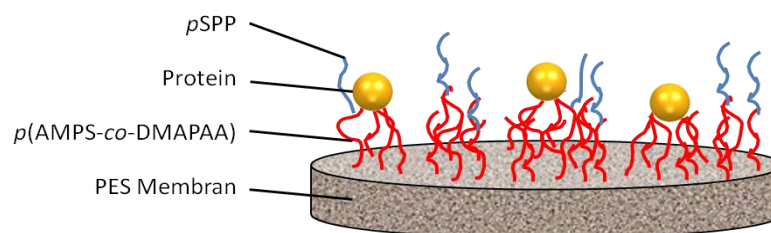


Abb. 6.7: Schematische Darstellung der Hydrogelbeschichtung mit der Anlagerung von Proteinen nach dem Fouling mit Bildung von „Kanälen“.

Für diese Theorie spricht, dass der Einfluss einer Kanalbildung auf die Permeabilität mit steigendem Funktionalisierungsgrad reduziert wird, wodurch diese These mit dem kontinuierlichen leichten Rückgang der  $R_f$ -Werte mit steigender Initiatorkonzentration und Belichtungszeit nach dem Maximum bei 5 mM Initiatorkonzentration korreliert.

Weiterhin konnte durch die durchgeführten FBS-Diffusionsexperimente (siehe Tab. 5.7, Seite 107) gezeigt werden, dass die in der FBS-Lösung enthaltenen Proteine (hauptsächlich Albumin,  $\alpha$ -  $\beta$ - und  $\gamma$ -Globuline) aufgrund des Größenausschlusses höchstwahrscheinlich nicht durch die Membranen diffundieren konnten. Dies galt sowohl für die unmodifizierte Basismembran als auch für die zweifach modifizierte Kompositmembran, hergestellt unter Verwendung einer Initiatorkonzentration von 10 mM und einer Belichtungszeit von

15 min. Der Cut-Off der zweifach modifizierten Membran beträgt 5,4 kDa, wohingegen Albumin 66 kDa und die verschiedenen Globuline molare Massen zwischen 48 - 144 kDa besitzen. Neben den enthaltenen Proteinen sind in der FBS-Lösung jedoch auch Elektrolyte, Zucker, Stoffwechselprodukte und Vitamine enthalten, welche klein genug sind um durch die Membranen zu diffundieren und so zu der geringen UV-Absorption des Permeates (siehe Tab. 5.7, Seite 107) führen können. Aufgrund dieser Daten ist eine Diffusion der im FBS enthaltenen Proteine zwar höchst unwahrscheinlich, kann jedoch nicht zu 100 % ausgeschlossen werden, wenngleich parallel durchgeführte UF-Versuche mit Myoglobin ( $M = 17$  kDa) einen 100 prozentigen Rückhalt ergaben.

Durch die Bestimmung der adsorbierten Stoffmenge im Anschluss an die Diffusionsexperimente konnte darüber hinaus die Verbesserte *Fouling*-Beständigkeit der Kompositmembran erneut nachgewiesen werden. Die adsorbierte Stoffmenge betrug bei der Verwendung der Kompositmembran nur  $14,9 \text{ mg/cm}^2$ , wohingegen die adsorbierte Menge bei der Verwendung der unmodifizierten Basismembran  $83,4 \text{ mg/cm}^2$  betrug. Jedoch ist auch eine Adsorption der FBS Bestandteile an der Gefäßwandung nicht auszuschließen, sodass nicht zwangsläufig die gesamte Stoffmenge ausschließlich an den Membranen adsorbiert wurde.

Würden diese berechneten Mengen einer reinen Proteinadsorption entsprechen, muss kritisch angemerkt werden, dass klassische Anti-*Fouling* Membranen Adsorptionswerte von wenigen  $\mu\text{g/cm}^2$  aufweisen und somit um den Faktor 1000 unter den hier ermittelten Werten liegen. In dem vorliegenden Fall werden aber die ebenfalls vorhandenen niedermolekularen Bestandteile der FBS Lösung zu dieser adsorbierten Stoffmenge gehören.

Bei dem Vergleich der erhaltenen Zetapotentialdaten der zweifach modifizierten Kompositmembran mit dem größten DG-Wert (10 mM PI; 25 min UV Belichtungszeit) mit Referenzmembranen, welche nur mit *pSPP* modifiziert waren, konnte gezeigt werden, dass bei den zweifach modifizierten Kompositmembran keine vollständige Bedeckung der Oberfläche mit *pSPP* vorlag (vgl. Abb. 5.31, Seite 104). Dieser Sachverhalt lässt sich aus den unterschiedlichen Zetapotentialverläufen ableiten. Während das Zetapotential der

nur mit *p*SPP modifizierten Referenzmembranen über den gesamten pH-Bereich fast horizontal verläuft (ZP = -15 bis -20 mV) und keinen IEP besitzt, verfügt das Zetapotential der zweifach modifizierten Kompositmembran über einen IEP von 6 und verläuft nicht horizontal. Daraus kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass keine vollständige *p*SPP Bedeckung der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht vorliegt.

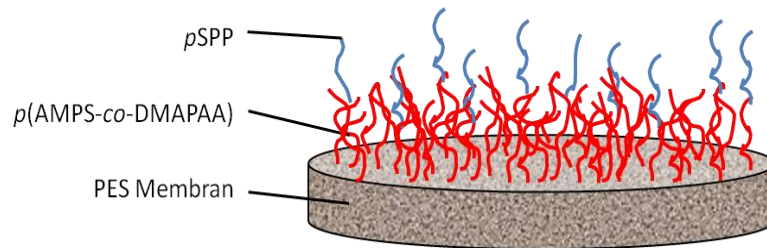


Abb.6.8: Schematische Darstellung der unvollständigen *p*SPP Bedeckung der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht.

Der Grund für das unterschiedliche Zetapotential von zwitterionischen und amphoteren Strukturen beruht dabei auf dem Abstand der kationischen und anionischen Ladungsträger. Während bei einer zwitterionischen Struktur der Abstand zwischen den Ladungsträgern klein genug ist, damit diese ein internes Ionenpaar bilden können, ist der Abstand zwischen den Ladungsträgern bei einer amphoteren Struktur zu groß, um ein internes Ionenpaar auszubilden. Durch das Ausbilden eines internen Ionenpaares resultiert eine nach außen elektroneutrale Oberfläche welche bei unvollständiger *p*SPP Beschichtung der Referenzmembran dazu geführt hat, dass Anionen aufgrund der schlechteren Hydratation besser adsorbieren als Kationen. Durch diesen Prozess wird ein geringes netto negatives Zetapotential von -15 bis -20 mV erhalten. Würde eine vollständige SPP Bedeckung vorliegen, würde das Zetapotential über den gesamten pH-Bereich sowohl waagrecht verlaufen als auch einen nahezu konstanten Absolutwert von 0 mV aufweisen.<sup>[142]</sup>

Bei der Verwendung von  $\text{KClO}_4$  als chaotropes Salz für die Elektrolytlösung während der Zetapotentialmessung erhöhte sich der Absolutwert des Zetapotential der Referenzmembran (nur modifiziert mit *p*SPP) von im Mittel -15 mV auf -10 mV und rückt somit näher an 0 mV heran. Diese Verschiebung kann auf die stärkere Quellung der *p*SPP



Schicht durch die  $\text{KClO}_4$ -Lösung zurückgeführt werden. Das chaotrope Perchlorat-Anion ist im Gegensatz zum Chlorid-Anion in der Lage, dass vorhandene interne Ionenpaar aufzubrechen. Entsprechend dem anti-Polyelektrolyteffekt (Abb. 2.17, Seite 35) werden die attraktiven Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Ladungsträgern entlang der Polymerketten durch die Anlagerung der Perchlorat-Anion aufgebrochen. Darüber hinaus werden durch das Perchlorat-Anion Wasserstoffbrückenbindungen gestört, wodurch der Hydratkäfig um die Polymerkette herum gestört wird und die Ladungen somit schlechter abgeschirmt werden. Folglich erfolgt eine Konformationsänderung („Streckung“) der Polymerkette zur Reduktion der Raumladungsdichte. Diese Streckung ist bei der Benutzung von Perchlorat-Anionen stärker ausgeprägt als bei Chlorid-Anionen, wodurch die Raumladungsdichte verringert ist und das Zetapotential näher an 0 mV heranrückt. Die unterschiedliche Quellung der pSPP Schicht ist schematisch in Abb. 6.9 dargestellt.

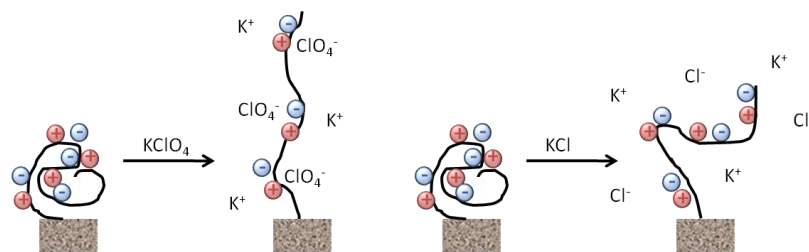


Abb. 6.9: Schematische Darstellung des Quellverhaltens von pSPP in Anwesenheit von KCl und  $\text{KClO}_4$ .

Auch bei den zweifach modifizierten Kompositmembranen resultierte ein abweichendes Zetapotential bei der Verwendung einer 5 mM  $\text{KClO}_4$ -Lösung anstelle der üblichen KCl-Lösung. Während die Lage des isoelektrischen Punktes fast unverändert blieb, nahm die Steigung des Zetapotentialverlaufes ab, wodurch ein abflachen des Verlaufes erfolgte. Auch in diesem Fall beruht dieser Effekt auf den eben beschriebenen Eigenschaften des chaotropen Perchlorat-Anions.

## 6.7 Trennleistung von zweifach modifizierten Kompositmembranen im Bezug zum *in vivo* Sensor

Die Trennleistung der selbst hergestellten PES Membranen mit und ohne Modifizierung in Bezug auf den Einsatz in dem *in vivo* Sensor wurde mit Hilfe mehrerer verschiedener Experimente ermittelt. Wie die bereits in Kap. 6.6 diskutierte Diffusion von FBS zeigte, konnten aufgrund des Größenausschlusses keine Proteine durch die selbst produzierten Membranen diffundieren. Dementsprechend können keine im humanen Blutkreislauf vorkommenden Proteine in das Sensorinnere gelangen.

Durch die Randbedingungen des gesamten Sensors und der daraus resultierenden Wahl einer Porenmembran als Blutbarriere für den Sensor können niedermolekulare Blutbestandteile jedoch prinzipiell durch die Membranen diffundieren. Aus diesem Grund erfolgten die kombinierten Diffusionsexperimente mit ausgewählten Blutbestandteilen. Die ermittelten Diffusionskoeffizienten dieser Blutbestandteile sind in Abb. 5.36 (Seite 111) für die verschiedenen Membranentwicklungsstufen dargestellt. Bei der Auftragung der Literaturwerte für die freie Diffusion der Blutkomponenten zeigte sich die erwartete Abhängigkeit von der Molekülmasse. Mit steigender Molekülmasse nimmt die freie Diffusion ab. Demnach ergab sich die Reihenfolge:

Kalium > Harnstoff > Kreatinin > Glukose > Vitamin B<sub>12</sub> > Inulin

Exakt dieselbe Reihenfolge konnte auch bei der Diffusion dieser Blutbestandteile durch die verschiedenen Membranentwicklungsstufen beobachtet werden. Anhand dieser Tatsache kann der Schluss gezogen werden, dass keine Querverbeeinflussung während der Diffusion der getesteten Substanzen untereinander auftritt. Besonders positiv hervorzuheben ist die Tatsache, dass die Diffusion der Blutbestandteile durch die Membran mit Ausnahme von Kalium mit steigendem Modifizierungsgrad abnahm, wodurch gleichzeitig die Selektivität in Bezug auf Kalium vergrößert wurde. Dies ist mit Hilfe von Abb. 5.37 (Seite 111) ersichtlich. Auffällig ist dabei der starke Anstieg der Selektivität der modifizierten Membranen relativ zu Vitamin B<sub>12</sub> und Inulin. Der Grund beruht dabei auf der Gegebenheit, dass diese beiden Substanzen groß genug sind, dass

ein Größenausschluss durch die Poren der trennaktiven Oberflächenschicht beginnt und nicht nur die aufgepfropfte Hydrogelstruktur für den Rückhalt verantwortlich ist. Dass der Rückhalt dieser beiden Substanzen dennoch keine 100 % beträgt, lässt sich mit der Porengrößenverteilung der trennaktiven Oberflächenschicht erklären. Nur die kleinsten Poren mit einem Durchmesser von 1 - 2 nm verhindern die Diffusion von Vitamin B<sub>12</sub> und Inulin durch die Membran, wohingegen die Poren mit einem größeren Durchmesser von mehreren Nanometern für die Diffusion zur Verfügung stehen.

Die gewählten Randbedingungen, welche zur Bestimmung der Selektivität der Membranen herangezogen werden, besitzen jedoch ebenfalls einen Einfluss auf die Selektivität. Basierend auf den unterschiedlichen Blutkonzentrationen der einzelnen Substanzen erfolgten die Diffusionsmessungen mit verschiedenen großen Startgradienten, wodurch der Substanzfluss durch die Membranen eine Funktion des gewählten Gradienten ist (vgl. Abb. 5.38, Seite 112). Aus diesem Grund resultiert für die Substanzflüsse eine andere Reihenfolge als oben bereits beschrieben, wobei die Reihenfolge nun

Kalium > Harnstoff > Glukose > Kreatinin > Inulin > Vitamin B<sub>12</sub>

lautet. Somit tauschten jeweils Glukose und Kreatinin sowie Inulin und Vitamin B<sub>12</sub> die Plätze bei der Reihenfolge. Dieser Tausch der Reihenfolge spiegelt sich folglich auch in der Selektivität, berechnet auf Basis der Substanzflüsse, wieder (siehe Abb. 5.39, Seite 113). Dementsprechend ist nun die Selektivität für Kalium im Bezug zu Vitamin B<sub>12</sub> am größten. Dabei muss jedoch angemerkt werden, dass nur für die unmodifizierte Basismembran eine größere Selektivität für Inulin als für Vitamin B<sub>12</sub> resultiert und die beiden modifizierten Membranen die größte Selektivität für Kalium in Bezug zu Vitamin B<sub>12</sub> besitzen.

Abgesehen von der unterschiedlichen Reihenfolge der beiden Selektivitäten (bezogen auf die Diffusion und auf den Substanzfluss), sind die Absolutwerte ebenfalls unterschiedlich. Die größte Selektivität im Bezug auf die Diffusion ergibt sich für Inulin bei der zweifach modifizierten Membran ( $S = 31$ ), wohingegen bei derselben Membran die Selektivität in

Bezug auf den Substanzfluss von Inulin fast 25.000 beträgt. Diese starke Abweichung beruht auf den Absolutwerten dieser beiden Substanzen. Während sich die Diffusionskoeffizienten dieser beiden Substanzen abgesehen von Zahlenwert nur um eine Zehnerpotenz unterscheiden, beträgt die Differenz der Substanzflüsse hingegen vier Zehnerpotenzen. Dies lässt sich wiederum auf den 400 x kleineren molaren Gradienten bei der Inulindiffusion als bei der Kaliumdiffusion zurückführen.

Wenngleich auch die Substanzflüsse der repräsentativen Blutbestandteile um bis zu vier Zehnerpotenzen kleiner waren als für Kalium, konnten dennoch alle getesteten niedermolekularen Verbindung prinzipiell durch die Membran diffundieren. Der nächste Schritt, welcher den Einsatz eines Quervernetzers (MBAA) zur weiteren Steigerung der Trennleistung beinhaltete, erwies sich dabei jedoch als kontraproduktiv. Erwartungsgemäß wurden die Diffusionskoeffizienten mit steigendem Vernetzeranteil kontinuierlich geringer, dies betraf jedoch ebenfalls die Kaliumdiffusion (Abb. 5.40, Seite 113). Es konnte erreicht werden, dass Inulin nicht mehr durch die Membran diffundieren konnte. Ebenfalls wurde Vitamin B<sub>12</sub> bei einem Vernetzeranteil von 10 w/w% vollständig zurückgehalten. Dessen ungeachtet hatte der Abfall der Diffusionskoeffizienten aller Substanzen aber zur Folge, dass die berechnete Selektivität für Kalium im Bezug zu den übrigen Blutbestandteilen verringert anstatt erhöht worden ist (vgl. Abb. 5.43, Seite 115), wodurch ein Einsatz in dem geplanten in vivo Sensor nicht zielführend ist.

Bei den *Crosslinker* abhängigen Kaliumdiffusionen zeigte sich weiterhin eine lineare Abnahme des effektiven Diffusionskoeffizienten in einem Bereich von 2,5 - 7,5 w/w% MBAA (Abb. 5.41, Seite 114), welche bei weiterer Erhöhung des Crosslinkeranteiles abflachte. Korreliert man die Ergebnisse mit den ermittelten Maschenweiten von Referenz Bulkhydrogelen mit identischer Zusammensetzung wie die quervernetzte amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht, so ergibt sich entsprechend der Abb. 5.42 (Seite 115) ein identischer linearer Verlauf in dem betrachteten Bereich. Dies ist gleichbedeutend mit einem linearen Anstieg des Widerstandes für diese quervernetzte amphotere Hydrogelschicht. Hinzu kommt, dass auch bei den berechneten Maschenweiten ein Abflachen der Werte erfolgt, sobald die Crosslinkerkonzentration

7,5 w/w% überschreitet. Eine mögliche Erklärung für dieses Verhalten könnte auf sterischen Effekten beruhen, dass aufgrund des Abstandes zwischen zwei Vernetzungspunkten eine weitere stringente Verringerung der Maschenweite mit steigender Crosslinkerkonzentration nicht möglich ist.

Wie in Kapitel 6.5 bereits beschrieben ist auf Grundlage des Membrandesigns eine Separation zwischen verschiedenen Ionen nicht möglich, wodurch potentielle Störionen, vor allem Natriumkationen, ungehindert in den Sensor gelangen können. Inwiefern dies zu Komplikationen für die Messfunktion des Sensors führt, kann an dieser Stelle noch nicht vollständig abgeschätzt werden, da auch die Entwicklung weiterer Komponenten des Sensors zur eigentlichen Signalerfassung (Umwandlung von einem chemischen in ein elektrisches Signal) noch nicht vollständig abgeschlossen ist.

## **6.8 Trennleistung von amphoteren Hydrogel-Kompositmembranen bei Proteinultrafiltration**

Der angestrebte IEP von 6,0 der hergestellten Hydrogel-Kompositmembran zur Proteinultrafiltration besaß im Idealfall diesen Wert, wies jedoch eine große Schwankung auf. Generell wurde dieser Wert ausgewählt, da er zwischen den isoelektrischen Punkten der beiden Proteine (BSA, pH 4,8; Myoglobin pH 7) liegt. Der IEP der Kompositmembran konnte durch die molare Mischung der beiden Monomere DMAPAA und AMPS sowie entsprechender Belichtungszeit eingestellt werden. Jedoch wies die Reproduzierbarkeit dieser IEP Einstellung eine viel größere Schwankung als z.B. die IEP Einstellung auf einen Wert von 7,4 auf.

Entsprechend der Abb. 5.53 (Seite 125) erkennt man, dass die Reproduzierbarkeit der IEP-Einstellung in einem Bereich zwischen pH 5,5 und 6,2 schwankt. Als mögliche Ursache hierfür kann das verwendete Basismaterial genannt werden. Es wurde eine kommerzielle PES 100 kDa Membran der Firma Sartorius Stedim Biotech verwendet, welche starke Inhomogenitäten mit einer Schwankung der Wasserpermeabilität von bis zu 200 % vorwies. Demnach gab es bei den ursprünglich DIN A4 großen Membranbögen starke

lokale Schwankungen der Porosität bzw. der Porengrößenverteilung, welche wie in Kap. 5.7 und in der Literatur beschrieben eindeutig einen Einfluss auf das *Grafting*-Resultat besitzen.<sup>[140]</sup>

In der Abb. 6.10 sind REM-Aufnahmen der unmodifizierten 100 kDa Basismembran zur besseren Veranschaulichung der Membranstruktur dargestellt.

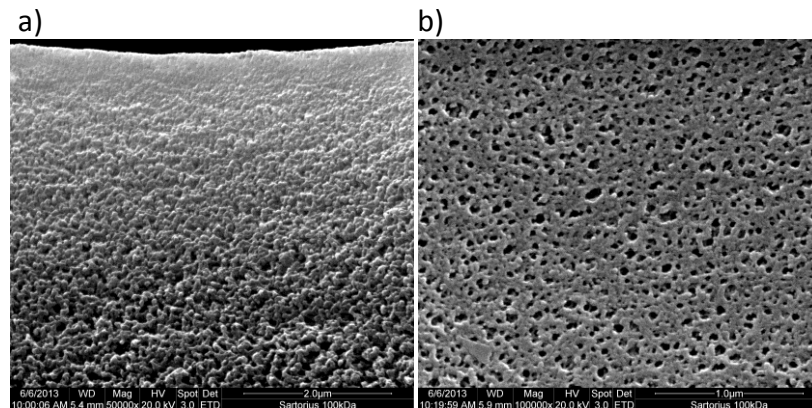


Abb. 6.10: REM Bilder der unmodifizierten 100 kDa Membran. a) Querschnitt; b) Oberfläche.

Dennoch konnte mit diesen Kompositmembranen experimentiert werden, da unter Berücksichtigung der Schwankung der IEP der Kompositmembran noch immer ca. eine pH-Wert Einheit von dem IEP der beiden Proteine entfernt war und somit der Einfluss der Elektrostatik auf die Proteinultrafiltration untersucht werden konnte.

Um zu klären, ob die unterschiedlichen pH-Werte oder Ionenstärken einen Einfluss auf das Quellverhalten der Hydrogelschicht besitzen und sich somit der Widerstand dieser Schicht von Puffersystem zu Puffersystem unterscheidet, wurden Referenz-Bulkhydrogele mit gleicher Zusammensetzung wie die amphotere Hydrogel-Ionenaustauscherschicht synthetisiert (siehe Abb. 5.56, Seite 128). Bei den anschließenden Quellexperimenten in den 9 verschiedenen PBS-Pufferlösungen zeigte sich erneut eine größere Quellung in allen PBS-Puffersystemen als in reinem Milli-Q®-Wasser. Auch an dieser Stelle kann die stärkere Quellung durch den bereits diskutierten anti-Polyelektrolyteffekt begründet werden. Es zeigte sich weiterhin eine geringfügige Reduzierung der Quellung mit steigender Ionenstärke (z.B. von 10,45 bei pH 6,0;  $I = 1 \text{ mM}$  auf 10,13 bei pH 6,0;  $I = 100 \text{ mM}$ ), wobei jedoch der Quellgrad nicht den Wert der Quellung in reinem Wasser

(9,95) unterschritt. Die Abnahme der Quellung wurde bei den durchgeführten Ellipsometrie Messungen und der Quellgradbestimmung in Wasser, 10 mM KCl und Tyrode-Lösung in Kap. 5.3.8 jedoch nicht beobachtet und steht demnach in direkten Widerspruch zu den hier diskutierten Werten. Die Zusammensetzung beider Hydrogelsysteme unterscheidet sich zwar geringfügig (53/47 mol% DMAPAA/AMPS bei der amphoteren Hydrogelbeschichtung der Kompositmembranen für den *in vivo* Sensor; 45/55 mol% DMAPAA/AMPS bei der Hydrogelbeschichtung der Kompositmembranen zur Proteinultrafiltration), allerdings kann dies nicht zu einem entgegengesetzten Quellverhalten in Abhängigkeit der Ionenstärke führen. Auch die Zusammensetzung der verwendeten Lösungen (Tyrode bzw. 100 mM NaCl) kann nicht ursächlich für diesen entgegen gerichtetem Quellungsverlauf sein. Tyrode-Lösung besteht größtenteils aus 8 g/L NaCl, wobei 100 mM NaCl einer Massenkonzentration von 5,8 g/L entsprechen. Dennoch wird bei den durchgeführten Ellipsometriemessungen in Kap. 5.3.8 ein permanenter Anstieg des Quellgrades mit steigender Ionenstärke beobachtet, was bei den Referenz Hydrogelen für die Proteinultrafiltration nicht der Fall ist.

Um weiterhin festzustellen, ob die verwendeten PBS-Puffersysteme einen Einfluss auf die Größe der Proteine besaßen, wurden die hydrodynamischen Radien der Proteine in Abhängigkeit der Salzkonzentration und des pH-Werte (vgl. Abb. 5.55, Seite 127) mit Hilfe der DLS vermessen. Es konnte dabei gezeigt werden, dass es keine Aussalzungseffekte oder Aggregation der Proteine gab wodurch die Trennleistung während der Ultrafiltration hätte beeinflusst werden können. Demzufolge resultieren unterschiedliche Rückhaltewerte für die beiden Proteine während der Ultrafiltration nur aus einer veränderten Elektrostatik bei den Membran-Protein und Protein-Protein Wechselwirkungen sowie der vorhandenen Schwankung der Porengrößenverteilung bzw. Porosität der Membranproben.

Bei der Bestimmung des Myoglobin Rückhaltes aus der Proteinmischung zeigte sich eine starke Abhängigkeit vom verwendeten pH-Wert (vgl. Abb. 5.57 und 5.58, Seite 129 und 130). So war der Rückhalt bei pH 4,8 im Mittel um den Faktor 2,5 größer als bei den anderen beiden pH-Werten. Dies kann mit der gleichen positiven Nettoladung von

Myoglobin und der Kompositmembran und den damit verbundenen repulsiven elektrostatischen Wechselwirkungen begründet werden. Bei den pH-Werten 6,0 und 7,0 hingegen herrscht entweder bei der Membran (pH 6,0) oder dem Protein (pH 7,0) Ladungsneutralität, wodurch ein geringerer, bei beiden pH-Werten vergleichbarer Rückhalt resultiert. Weiterhin zeigte ein Vergleich von unmodifizierten und modifizierten Membranen, dass es entsprechend der Erwartung keine pH Abhängigkeit des Rückhaltes bei einer umodifizierten Membran gibt und diese somit nicht pH-schaltbar ist um den Rückhalt zu variieren.

Ferner muss an dieser Stelle betont werden, dass anhand der Ergebnisse kein signifikanter Einfluss der gewählten Ionenstärke auf den Proteinrückhalt existierte. Ein solcher Einfluss hätte aber erwartet werden können, da mit steigender Ionenstärke die Debye-Länge kleiner wird und somit eine vorhandene Nettoladung der Membran oder des Myoglobins stärker abgeschirmt werden würde. Dadurch hätte bei einem pH-Wert von 4,8 mit einem sinkenden Rückhalt bei steigender Ionenstärke gerechnet werden können.

Die Trennleistung der Kompositmembranen variierte darüber hinaus, ob eine Proteinmischung verwendet wurde oder ob beide Proteine einzeln vermessen wurden. Bei der Filtration einer reinen Myoglobin-Lösung ergaben sich geringere Rückhaltewerte, wobei die pH-Abhängigkeit jedoch erhalten blieb. Das verringerte Rückhaltevermögen der Membran bei einer reinen Myoglobin Lösung kann auf ein unterschiedliches *Fouling* zurückgeführt werden. Bei der Verwendung von Proteinmischungen tritt ein stärkeres, kombiniertes Protein-*Fouling* bedingt durch vermehrte Protein-Protein Wechselwirkungen auf, wodurch der Rückhalt der Proteine unter Gebrauch solcher Mischung insgesamt meistens erhöht ist.<sup>[46]</sup>

Wurde des Weiteren eine zweifache Membranmodifizierung mit einer zusätzlichen pSPP Hydrogelschicht verwendet, ergab sich ein wesentlich größerer Myoglobin-Rückhalt aus der Proteinmischung als bei allen anderen getesteten Systemen. Die gleichzeitig aufgezeichnete Flussverringering (siehe Abb. 5.61, Seite 132) sowie die ermittelte Flusswiederherstellung (siehe Abb. 5.62, Seite 133) deuten auf ein stärkeres Membran-



*Fouling* hin, wodurch der größere Rückhalt bei diesem Membrantyp erklärt werden kann. Die Flussverringerung war bei der zweifach modifizierten Kompositmembran am stärksten ausgeprägt, wobei die Flusswiederherstellung bei diesem Membrantyp gleichzeitig geringer ausfiel als bei einer unmodifizierten Basismembran. Ein möglicher Grund für diesen unerwarteten Verlauf kann der Modifizierungsprozess selbst sein. Jedes UV-initiiertes *Grafting-from* Resultat ist die Kombination aus Porendegradation und aufwachsender Polymerschicht, wobei letztgenannte bei einer gelungenen Membranmodifizierung die Porendegradation überkompensiert. Die hier verwendete Basismembran ist eine 100 kDa PES Membran mit einer Schwammstruktur und einer Gesamtporosität von ca. 75 %. Bei der Synthese der zweilagigen Hydrogelschicht besteht die Möglichkeit, dass trotz der Verwendung eines entsprechenden UV-Bandpassfilters bei der zweiten Modifizierung eine Porendegradation erfolgt ist, ob wohl die dazu notwendige Wellenlänge ( $< 330$  nm) herausgefiltert wurde. Ferner können die Myoglobin Moleküle durch den großen *Cut-Off* tief in die Membranmatrix eindringen und so ein irreversibles internes Membran-*Fouling* verursachen.

Allerdings steht dieses starke Membran-*Fouling* der zweifach modifizierten Kompositmembran bei der Proteinultrafiltration im direkten Widerspruch zu den übrigen ermittelten verbesserten *Fouling*-Beständigkeiten bei den durchgeführten FBS *Fouling*-Experimenten in Kap. 5.4. Jedoch unterscheiden sich die hier verglichenen Experimente hinsichtlich ihrer Durchführung. Während es sich bei den FBS *Fouling*-Experimenten mit den zweifach modifizierten Kompositmembranen um statische Adsorptions- und Diffusionsexperimente handelte, bei welchen die Proteine nicht in die innere Membranstruktur aufgrund der geringen Porengröße eindringen konnten, gelangen die Myoglobin und BSA Moleküle während der Ultrafiltration mit der zweifach modifizierten Kompositmembran in die innere Membranstruktur.

Bei der Rückhaltsbestimmung von BSA aus den Proteinmischungen (siehe Abb. 5.59 und 5.60, Seite 131) zeigte sich im Gegensatz zu Myoglobin keine ausgeprägte Funktion des eingestellten pH-Wertes, wenngleich der Rückhalt von BSA aufgrund der größeren Molmasse bzw. des hydrodynamischen Durchmessers immer größere Werte annahm als

der Rückhalt von Myoglobin aus der gleichen Proteinmischung. Der Grund für dieses Verhalten beruht auf der Tatsache, dass der Rückhalt von BSA im Gegensatz zu Myoglobin auf einer dominierenden Größenselektivität der Kompositmembranen beruht. Dies verdeutlichen auch die identischen Rückhaltewerte der einfach und zweifach modifizierten Kompositmembranen sowie der unmodifizierten Membran mit Ausnahme bei pH 6,0. Wie schon bei Myoglobin ließ sich auch bei dem BSA Rückhalt keine einheitliche Abhängigkeit von den verwendeten Ionenstärken ausfindig machen, da der Rückhalt bei allen drei pH-Werten als Funktion der Ionenstärke immer einen anderen Verlauf besaß.

Der BSA Rückhalt aus der Proteinmischung bei der Filtration durch zweifach modifizierte Kompositmembranen war wie zuvor bei Myoglobin größer als bei der Verwendung der einfach modifizierten Kompositmembran. Eine Ausnahme bildeten dabei die Resultate bei pH 7,0, welche allesamt vergleichbare Werte annahmen. Unter Betrachtung der Flussreduktion während der Ultrafiltration (siehe Abb. 5.59, Seite 131) und der Flusswiederherstellung (vgl. Abb. 5.60, Seite 131) kann auch hier ein bereits diskutiertes stärkeres Membran-*Fouling* als Ursache für die hohen Rückhaltewerte herangezogen werden.

Der BSA Rückhalt bei der Filtration einer reinen BSA-Lösung war wie zuvor bei Myoglobin mit Ausnahme von pH 7,0 kleiner im direkten Vergleich zu einer sonst verwendeten BSA/Myoglobin Proteinmischung. Der Grund beruht auch an dieser Stelle auf das bereits beschriebene stärkere kombinierte *Fouling* der Proteinmischung.

Abschließend muss das Fazit gezogen werden, dass die Kombination von Größen- und Ladungsselektivität bei der Ultrafiltration einer BSA/Myoglobin Lösung durch Kompositmembranen mit einer amphoteren Hydrogelbeschichtung generell funktioniert. Die Abb. 6.11 zeigt zur Verdeutlichung einen Auszug aus Abb. 5.58 (Seite 130).

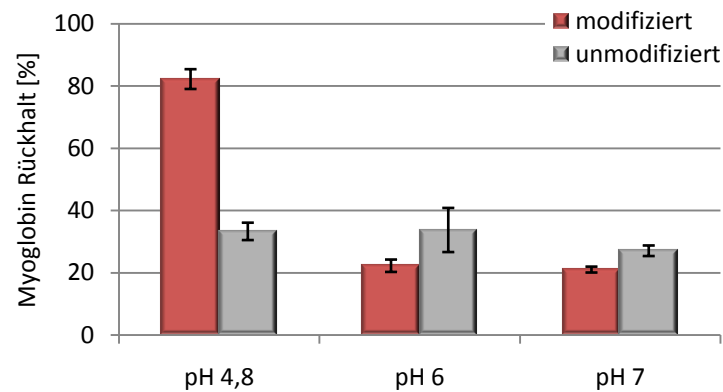


Abb. 6.11: Vergleich von unmodifizierten und modifizierten PES 100 kDa Membranen bei der pH-Wert abhängigen Ultrafiltration von Myoglobin.

Die vorliegenden Membranen sind jedoch in Anbetracht der Flussreduktion und der Flusswiederherstellung nicht geeignet, um in einem großindustriellen Maßstab Anwendung zu finden. Ein starker Faktor spielte dabei die gewählte Basismembran, da erhebliche Schwankungen der Porosität und der Porengrößenverteilung festgestellt wurden, welche durch die aufgepfropfte Hydrogelschicht nicht überkompensiert werden konnten. Diese Schwankungen wirkten sich somit direkt auf das *Fouling*-Verhalten der Membranen und somit auch auf den Rückhalt der Proteine aus. Die zum Teil großen Fehlerbalken von bis zu 25 % des Absolutwertes vor allem bei dem ermittelten BSA Rückhalt erschwerten dabei die Auswertung der Daten.

## 6.9 Membraneigenschaften im Bezug zum *in vivo* Sensor

Da vor einem operativen Eingriff der zu implantierende *in vivo* Sensor sterilisiert werden muss, muss die zu verwendende Membran unempfindlich und beständig gegenüber den Sterilisationsbedingungen sein. Die ersten Sterilisationsexperimente, dargestellt in Abb. 5.45, verdeutlichen dabei die eklatante Reduktion der Kaliumdiffusion von sterilisierten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembranen im Vergleich zu unsterilisierten Membranproben. Der effektive Kaliumdiffusionskoeffizient von autoklavierten Membranen war um den Faktor 7,5 kleiner als durch unsterilisierte Membranen. Auch eine EO-Sterilisation führte dazu, dass der Diffusionskoeffizient etwa um den Faktor 2 geringer war als für unsterilisierte Membranen. Der Grund für dieses

Verhalten konnte in der Austrocknung der Membran während der Sterilisation gefunden werden. Wenn eine anisotrope, nanoporöse Ultrafiltrationsmembran austrocknet, kann anschließend nicht mehr die gesamte innere Oberfläche von Wasser benetzt werden, was durch die große Oberflächenspannung des Wassers bedingt ist. Demnach stehen auch nicht mehr alle Poren für die Kaliumdiffusion zur Verfügung, wodurch die Kaliumdiffusion verringert wird. Dieser Austrocknungsprozess war bei Autoklavierung anhand der Daten aus Abb. 5.45 (Seite 118) stärker ausgeprägt als bei einer EO-Sterilisation. Dafür spricht auch die doppelt so hohe Temperatur von 121 °C gegenüber 60 °C.

Die auftretende Austrocknung der Membranen während der Sterilisation konnte erfolgreich durch die Konservierung der Membranen mit Glycerin entgegengewirkt werden. Glycerin besitzt einen extrem niedrigen Dampfdruck von  $< 1 \times 10^{-3}$  mbar, wodurch die Poren während des gesamten Sterilisationsprozesses benetzt bleiben und die Membran somit nicht austrocknet. Die erfolgreiche Membrankonservierung und die damit verbundene Unempfindlichkeit gegenüber den Sterilisationsbedingungen verdeutlichen dabei die ermittelten Kaliumdiffusionskoeffizienten in Abb. 5.46 (Seite 119). Die ermittelten effektiven Diffusionskoeffizienten vor und nach EO Sterilisation wichen nur unwesentlich von einander ab, bzw. waren unter Berücksichtigung der überlappenden Fehlerbalken nicht unterscheidbar.

Darüber hinaus konnte mit Hilfe der durchgeführten FBS *Fouling*-Experimente (siehe Abb. 5.47, Seite 119) nachgewiesen werden, dass die *Fouling*-Beständigkeit der modifizierten, sterilisierten Membranen mit den unmodifizierten Referenzproben identisch waren. Dieses Ergebnis war somit ein direkter Indikator für die Beständigkeit und Unempfindlichkeit der Membranmodifizierung während der EO-Sterilisation.

Die gewählte Glycerinkonservierung der Membranen wirkte sich ferner nicht negativ auf die Kaliumdiffusion aus, wenn das Glycerin vor der Diffusion nicht wieder aus der Membran herausgewaschen wurde. Diese Tatsache beweisen die Kaliumdiffusionskoeffizienten in Abb. 5.48 (Seite 120). Somit ist ein externer Waschschrift der Membran vor einer operativen Implantation nicht erforderlich um die Funktionsfähigkeit der Membran zu bewahren. Jedoch erkennt man Anhand der

Absolutwerte der 10 Proben, dass zum Ende der Promotion die selbst produzierten Membranen inhomogener wurden. Dies äußerte sich nicht nur in den Kaliumdiffusionskoeffizienten, sondern auch durch auftretende, optisch sichtbare Membrandefekte. Als Ursache für diese schleichende Verstärkung der Inhomogenität konnte das Membranpolymer PES ausgemacht werden, welches höchstwahrscheinlich während der Promotionszeit Luftfeuchtigkeit aufgenommen hat. Daher empfiehlt es sich, dass Basispolymer vor jedem Rakelprozess neu zu trocknen, um eine bessere Reproduzierbarkeit zu erlangen.

Auch die durchgeführten *in vivo* Tierversuche mit den konservierten, zweifach modifizierten Membranen ergaben eine Tauglichkeit der Membran für den geplanten Sensor. Anhand von explantierten Membranproben (siehe Abb. 5.50, Seite 121) konnte gezeigt werden, dass kein Fouling der Membran nach einer Implantation von 30 Tagen vorlag, aber stattdessen der gesamte Träger mit einem gummiartigen schnittfesten Gewebe überzogen war. Eine anschließend durchgeführte histologische Untersuchung ergab, dass es sich bei diesem Gewebe um eine Collagenschicht mit Endothelzellen an der äußeren Oberfläche handelt und somit keine Thrombogenität durch die Membran bzw. dem Membranträger verursacht wurde.

Durchgeführte Kaliumdiffusionsexperimente mit diesen explantierten Membranen ergaben unter Berücksichtigung der Standardabweichung keine Reduktion der Kaliumdiffusion durch die Implantation. Leider können diese Ergebnisse nicht an dieser Stelle präsentiert werden, jedoch deutet dieses Ergebnis darauf hin, dass der gewählte Messaufbau nicht optimiert ist und geringe Änderungen der Membranperformance nicht aufgelöst werden können. Inwiefern sich somit die Implantation bzw. das Bilden der Collagenschicht negativ auf die Kaliumdiffusion auswirkt, kann an dieser Stelle somit nicht diskutiert werden.

## 7. Schlussfolgerung und Ausblick

Die Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit beinhaltete eine kaliumpermeable Barrieremembran mit einer möglichst großen Kaliumselektivität, einem hohen Kaliumfluss und guten anti-*Fouling* Eigenschaften herzustellen, welche später in einem neuartigen *in vivo* Implantat zur Erfassung der Blutkaliumkonzentration Anwendung finden soll. Dazu wurde ein Konzept entwickelt, welches auf der Selbstpräparation einer eigenen Polyethersulfonmembran mit anschließender UV-initiiertes Oberflächenbeschichtung beruht. Polyethersulfon wurde als Membranpolymer aufgrund der hohen Glasübergangstemperatur von 225 °C und der damit verbundenen Unempfindlichkeit gegenüber Autoklavierung und Ethylenoxid-Sterilisation ausgewählt.

Im ersten Teil der Arbeit wurden kommerziell erhältliche PES Ultrafiltrationsmembranen mit einem *Cut-Off* von maximal 5 kDa hinsichtlich ihrer Kaliumdiffusionseigenschaften untersucht. Dabei zeigte sich eine starke Abhängigkeit des Kaliumflusses von der Membrandicke. Die Membran mit der geringsten Schichtdicke war dabei die 5 kDa PES Membran der Firma Sartorius Stedim Biotech mit einer Schichtdicke von 125 µm. Aus diesem Grund wurde die Entwicklung einer eigenen 45 µm dünnen PES Membran vorangetrieben, wobei die 5 kDa PES Membran als Referenzmaterial ausgewählt wurde.

Im Vergleich zur Referenzmembran verfügt die in dieser Arbeit selbst produzierte PES Membran über eine dickere trennselektive Oberflächenschicht, was letztendlich zu kleineren Kaliumdiffusionskoeffizienten verglichen mit der Referenzmembran geführt hat. Gleichzeitig ist der Kaliumfluss durch die Membran aufgrund der geringeren gesamten Membrandicke größer als bei der Sartorius 5 kDa Membran. In Anbetracht der späteren Verwendung in dem geplanten *in vivo* Implantat bleibt es abzuschätzen, ob eine weitere Steigerung der Oberflächenporosität bzw. Reduzierung der Schichtdicke der trennaktiven Schicht zwingend notwendig ist. Dies könnte jedoch durch einen größeren Anteil von PVP als Porenbildner in der Dope-Lösung oder auch durch den gezielten, optimierten Einsatz weiterer hydrophiler Additive wie beispielsweise PEG's, Pluronic® oder Tetronics® bewerkstelligt werden.

Die benötigte Oberflächenmodifizierung zur Reduktion des DONNAN-Effektes bei dem Transport von Ionen durch die Membranen wurde mit Hilfe einer amphoteren Hydrogel-

Ionenaustauscherschicht realisiert und wurde auf der Referenzmembran optimiert. Anschließend konnte diese Beschichtung problemlos auf die inzwischen selbstproduzierte dünnere PES Membran übertragen werden. Dabei wurde der isoelektrische Punkt der amphoteren Hydrogelschicht auf den pH-Wert des Blutes (7,4) eingestellt. Der positive Effekt dieser speziellen amphoteren Beschichtung zur Reduktion des auftretenden DONNAN-Effektes konnte bei der Bestimmung der Kaliumdiffusion in Abhängigkeit des pH-Wertes eindeutig gezeigt werden, da die Kaliumdiffusion bei pH 7,4 (netto neutrale Membranoberflächenladung) am größten war.

Bei der näheren Analyse der Einflüsse auf das Pfropfungsergebnis bei der Copolymerisation von DMAPAA und AMPS zeigte sich neben der Abhängigkeit von der Belichtungszeit auch ein Einfluss der Porengröße der verwendeten Basismembran. Dieser Einfluss kann dabei auf das Verhältnis von der Polymermasse der Basismembran zur Oberfläche erklärt werden. Eine zukünftige Bestimmung des Funktionalisierungsgrades in Abhängigkeit der verwendeten Basismembran (mit unterschiedlichen Porengrößen) kann nähere Informationen über das Pfropfungsergebnis und die beeinflussenden Faktoren liefern. Dabei würde ein abfallender Funktionalisierungsgrad mit steigendem Porenradius dem verringerten Verhältnis von Polymermasse der Basismembran zur Oberfläche entsprechen.

Ein weiterer Teil dieser Arbeit bestand in der zusätzlichen Pfropfung einer zweiten, zwitterionischen Hydrogelschicht auf der bereits synthetisierten Hydrogel-Kompositmembran. Dabei konnte in dieser Arbeit erfolgreich gezeigt werden, dass eine solche zweilagige Hydrogelstruktur aufgepfropft werden kann. Die anti-*Fouling* Eigenschaften dieser zweifach modifizierten Membranen konnte dabei in Abhängigkeit der Photoinitiatorkonzentration sowie der Belichtungszeit erheblich verbessert werden. Bei der Verwendung einer Photoinitiatorkonzentration von 5 mM konnte sogar eine *Fouling*-Beständigkeit größer 1 erzielt werden. Dabei deuten die Ergebnisse der durchgeführten Referenzexperimente auf eine erhöhte Hydrophilie der Membranen nach dem *Fouling*-Experiment hin.



Die sukzessive Verbesserung der Selektivität der Membranen durch das Aufpfropfen der ersten und zweiten Hydrogelschicht konnte mit Hilfe der Diffusion von repräsentativen Blutbestandteilen verdeutlicht werden. Durch die Verwendung von Stoffgradienten entsprechend dem Konzentrationsbereich der Substanzen im humanen Blut war die Reihenfolge der Selektivität auch eine Funktion der Berechnungsgrundlage. So zeigte sich ein kontinuierlicher Anstieg der Selektivität als Funktion des hydrodynamischen Radius bei der Verwendung der effektiven Diffusionskoeffizienten. Wurde hingegen der verwendete Substanzfluss zur Berechnung der Selektivität herangezogen ergab sich die Reihenfolge der Selektivität in Abhängigkeit des verwendeten Konzentrationsgradienten. Die Selektivität für Kalium im Bezug zu den jeweiligen Blutbestandteilen nahm dabei mit größer werdendem Gradienten der Substanzen ab.

Gleichzeitig konnte durch diese Diffusionsexperimente gezeigt werden, dass trotz Oberflächenmodifizierung niedermolekulare Substanzen wie Glukose, Harnstoff oder Kreatinin durch die Membran diffundieren und somit in das Sensorinnere gelangen können. Diese Tatsache entspricht dem Manko des Konzeptes der vorliegenden Arbeit, welches jedoch aufgrund der gegebenen Randbedingungen des Kaliumsensors unvermeidbar war und seit Beginn der Promotion bewusst wahrgenommen wurde.

Die Anwendbarkeit der hergestellten Kompositmembranen für den geplanten Kaliumsensor konnte durch die erfolgreiche Sterilisierbarkeit und Langzeitbeständigkeit der Kompositmembran bei *in vivo* Tierversuchen bewiesen werden. Die durchgeführten Experimente zeigen dabei die Notwendigkeit der Membrankonservierung mit Glycerin vor der EO Sterilisation, um trocknungsbedingte Flussverluste zu vermeiden. Ferner besaß die gewählte Sterilisationsmethode keinen negativen Einfluss auf die Kaliumdiffusion und führte auch nicht zu einer Beeinträchtigung der Funktionalität der Hydrogelbeschichtung.

Die durchgeführte Implantation der Membranen für 30 Tage in einer Vene bei Hausschweinen zeigte die Bildung einer Collagenschicht mit Endothelzellen an der äußeren Oberfläche, wodurch keine Thrombogenität der implantierten Membran vorlag.

Im Bezug zur Anwendung der Membran in dem *in vivo* Implantat können die einzelnen Teilschritte der Membranentwicklung der vorliegenden Arbeit als erfolgreich angesehen werden. Die Anforderung an die Membran hinsichtlich eines großen Kaliumflusses, Reduktion des DONNAN-Ausschlusses, gewünschtem *Cut-Off*, Biokompatibilität, Sterilisierbarkeit, Handhabbarkeit und Langzeitstabilität konnten gänzlich erfüllt werden. Einzig die Selektivität für Kalium im Bezug zu repräsentativen Blutbestandteilen ist entsprechend dem Konzept und den vorherrschenden Randbedingungen nicht so groß, dass sämtliche im humanen Blutkreislauf vorkommenden Substanzen vollständig zurückgehalten werden. Inwiefern die Permeabilität der Kompositmembran für diese niedermolekularen Substanzen eine kritische Größe für den finalen Kaliumsensor darstellt, kann jetzt noch nicht abschließend bewertet werden. Die Entwicklung eines weiteren Bauteils des Sensors zur eigentlichen Messung der Kaliumkonzentration ist noch nicht abgeschlossen, wodurch Quereinflüsse solcher niedermolekularer Substanzen auf die Funktionalität noch nicht erfasst werden konnten. Es bleibt abzuwarten, ob die hergestellte Kompositmembran den Ansprüchen an den Sensor genüge leistet oder ob eine weitere Steigerung der Selektivität der Kompositmembran notwendig ist. Eine Möglichkeit würde in dem zusätzlichen *Grafting* von Kronenethern und Vernetzermolekülen innerhalb der Hydrogelstruktur der Oberflächenbeschichtung bestehen, wenngleich dadurch der Ionenfluss durch die Membran reduziert werden würde.

## 8. Literaturverzeichnis

- [1] C.-C. Shieh, M. Coghlan, J.-P. Sullivan, M. Gopalakrishnan, *Pharmacological Reviews*, **2000**, 52, 557.
- [2] G. G. Krishna, *Journal of the American Society of Nephrology*, **1990**, 1, 43.
- [3] L. Frassetto, R. C. Morris, D. E. Sellmeyer, K. Todd, A. Sebastian, *European Journal of Nutrition*, **2001**, 40, 200.
- [4] W. Fink, G. Haidinger, *Zeitschrift für Allgemeinmedizin*, **2007**, 83, 102.
- [5] T. Neumann, J. Biermann, J. Wasem, *Deutsches Ärzteblatt*, **2009**, 106, 269.
- [6] Statistisches-Bundesamt, Sterbefälle insgesamt 2011 nach den 10 häufigsten Todesursachen;  
<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/SterbefaelleInsgesamt.html>, Aufgerufen am **22.11.2013**.
- [7] J. E. Macdonald, A. D. Struthers, *Journal of the American College of Cardiology*, **2004**, 43, 155.
- [8] M. J. Lysaght, *Journal of the American Society of Nephrology*, **2002**, 13, 37.
- [9] P. W. Atkins, J. de Paula, *Physikalische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- [10] E. L. Cussler, *Diffusion - Mass transfer in fluid systems*, Cambridge University Press, Cambridge, **1984**.
- [11] A. Einstein, *Annalen der Physik*, **1905**, 17, 549.
- [12] T. Melin, R. Rautenbach, *Membranverfahren: Grundlagen der Modul- und Anlagenauslegung*, Springer-Verlag, Heidelberg, **2007**.
- [13] M. Mulder, *Basic Principles of Membrane Technology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **2003**.
- [14] F. Lipnizki, *Chemie Ingenieur Technik*, **2004**, 76, 165.
- [15] S. Frost, M. Ulbricht, *Journal of Membrane Science*, **2013**, 448, 1.
- [16] S. Chang, A. G. Fane, T. D. Waite, *Journal of Membrane Science*, **2006**, 268, 132.
- [17] N. P. Berezina, N. A. Kononenko, O. A. Dyomina, N. P. Gnusin, *Advances in Colloid and Interface Science*, **2008**, 139, 3.
- [18] T. Xu, *Journal of Membrane Science*, **2005**, 263, 1.
- [19] R. van Reis, J. M. Brake, J. Charkoudian, D. B. Burns, A. L. Zydney, *Journal of Membrane Science*, **1999**, 159, 133.
- [20] S. Rao, K. Ager, A. L. Zydney, *Separation Science and Technology*, **2007**, 42, 2365.
- [21] H. Matsumoto, Y. Koyama, A. Tanioka, *Journal of Colloid and Interface Science*, **2003**, 264, 82.
- [22] K. Ruanjaikaen, A. L. Zydney, *Biotechnology and Bioengineering*, **2011**, 108, 822.
- [23] A. L. Zydney, *International Dairy Journal*, **1998**, 8, 243.
- [24] M. M. Rohani, A. Mehta, A. L. Zydney, *Journal of Membrane Science*, **2010**, 362, 434.
- [25] J. M. S. Henis, M. K. Tripodi, *Journal of Membrane Science*, **1981**, 8, 233.
- [26] P. van de Witte, P. J. Dijkstra, J. W. A. van den Berg, J. Feijen, *Journal of Membrane Science*, **1996**, 117, 1.
- [27] R. Zsigmondy, W. Bachmann, *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, **1918**, 103, 119.
- [28] Y. G. Ko, D. S. Lee, G. S. Lee, U. S. Choi, Y. S. Park, K. P. Yoo, *Macromolecular Chemistry and Physics*, **2011**, 212, 1443.
- [29] J. Zhao, G. Luo, J. Wu, H. Xia, *ACS Applied Materials & Interfaces*, **2013**, 5, 2040.

- [30] C. Barth, M. C. Gonçalves, A. T. N. Pires, J. Roeder, B. A. Wolf, *Journal of Membrane Science*, **2000**, 169, 287.
- [31] H. Susanto, M. Ulbricht, *Journal of Membrane Science*, **2009**, 327, 125.
- [32] J. H. Kim, C. K. Kim, *Journal of Membrane Science*, **2005**, 262, 60.
- [33] D. B. Mosqueda-Jimenez, R. M. Narbaitz, T. Matsuura, G. Chowdhury, G. Pleizier, J. P. Santerre, *Journal of Membrane Science*, **2004**, 231, 209.
- [34] A. Rahimpour, S. S. Madaeni, A. Shockravi, S. Ghorbani, *Journal of Membrane Science*, **2009**, 334, 64.
- [35] R. W. Baker, *Membrane Technology and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- [36] K. Ohlrogge, K. Ebert, M. Ulbricht, *Membranen*, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- [37] S. A. McKelvey, W. J. Koros, *Journal of Membrane Science*, **1996**, 112, 29.
- [38] S. Behnke, *Dissertation*, Universität Duisburg-Essen, **2013**.
- [39] J. D. Ferry, *Chemical Reviews*, **1936**, 18, 373.
- [40] E. M. Renkin, *The Journal of General Physiology*, **1954**, 38, 225.
- [41] W. J. Koros, Y. H. Ma, *Pure & Applied Chemistry*, **1996**, 68, 1479.
- [42] L. Song, *Journal of Membrane Science*, **1998**, 139, 183.
- [43] J. Hermia, *Transactions of the Institution of Chemical Engineers*, **1982**, 60, 183.
- [44] L. Song, M. Elimelech, *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, **1995**, 91, 3389.
- [45] G. B. van den Berg, C. A. Smolders, *Desalination*, **1990**, 77, 101.
- [46] A. R. Costa, M. N. de Pinho, M. Elimelech, *Journal of Membrane Science*, **2006**, 281, 716.
- [47] K. W. K. Yee, D. E. Wiley, J. Bao, *Journal of Membrane Science*, **2009**, 332, 69.
- [48] P. D. Peeva, *Dissertation*, Universität Duisburg-Essen, **2011**.
- [49] S. Bhattacharjee, A. S. Kim, M. Elimelech, *Journal of Colloid and Interface Science*, **1999**, 212, 81.
- [50] J. Rodríguez, C. H. Allibert, J. M. Chaix, *Powder Technology*, **1986**, 47, 25.
- [51] D. Wu, J. A. Howell, R. W. Field, *Journal of Membrane Science*, **1999**, 152, 89.
- [52] S. Metsämuuronen, J. Howell, M. Nyström, *Journal of Membrane Science*, **2002**, 196, 13.
- [53] G. Belfort, R. H. Davis, A. L. Zydney, *Journal of Membrane Science*, **1994**, 96, 1.
- [54] A. Asatekin, S. Kang, M. Elimelech, A. M. Mayes, *Journal of Membrane Science*, **2007**, 298, 136.
- [55] I. H. Huisman, P. Prádanos, A. Hernández, *Journal of Membrane Science*, **2000**, 179, 79.
- [56] S. T. Kelly, A. L. Zydney, *Journal of Membrane Science*, **1995**, 107, 115.
- [57] H. Chen, A. S. Kim, *Desalination*, **2006**, 192, 415.
- [58] M. Y. Teng, S. H. Lin, C. Y. Wu, R. S. Juang, *Journal of Membrane Science*, **2006**, 281, 103.
- [59] G. Belfort, J. Pimbley, A. Greiner, K. Y. Chung, *Journal of Membrane Science*, **1993**, 77, 1.
- [60] P. Bacchin, P. Aimar, R. W. Field, *Journal of Membrane Science*, **2006**, 281, 42.
- [61] M. Mrksich, G. M. Whitesides, *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, **1996**, 25, 55.
- [62] R. G. Chapman, E. Ostuni, S. Takayama, R. E. Holmlin, L. Yan, G. M. Whitesides, *Journal of the American Chemical Society*, **2000**, 122, 8303.

- [63] E. Ostuni, R. G. Chapman, R. E. Holmlin, S. Takayama, G. M. Whitesides, *Langmuir*, **2001**, 17, 5605.
- [64] P. D. Peeva, N. Million, M. Ulbricht, *Journal of Membrane Science*, **2012**, 390, 99.
- [65] K. L. Prime, G. M. Whitesides, *Science*, **1991**, 252, 1164.
- [66] P. D. Peeva, T. Pieper, M. Ulbricht, *Journal of Membrane Science*, **2010**, 362, 560.
- [67] P. D. Peeva, T. Knoche, T. Pieper, M. Ulbricht, *Papers presented at European Conference on Fluid-Particle Separation*, **2012**, 92, 83.
- [68] P. D. Peeva, T. Knoche, T. Pieper, M. Ulbricht, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **2012**, 51, 7231.
- [69] A. Asatekin, A. Menniti, S. Kang, M. Elimelech, E. Morgenroth, A. M. Mayes, *Journal of Membrane Science*, **2006**, 285, 81.
- [70] R. S. Kane, P. Deschatelets, G. M. Whitesides, *Langmuir*, **2003**, 19, 2388.
- [71] E. A. Vogler, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, **1999**, 10, 1015.
- [72] Z. Zhang, S. Chen, Y. Chang, S. Jiang, *The Journal of Physical Chemistry B*, **2006**, 110, 10799.
- [73] Z. Zhang, T. Chao, S. Chen, S. Jiang, *Langmuir*, **2006**, 22, 10072.
- [74] S. Chen, F. Yu, Q. Yu, Y. He, S. Jiang, *Langmuir*, **2006**, 22, 8186.
- [75] R. E. Holmlin, X. Chen, R. G. Chapman, S. Takayama, G. M. Whitesides, *Langmuir*, **2001**, 17, 2841.
- [76] S. Chen, J. Zheng, L. Li, S. Jiang, *Journal of the American Chemical Society*, **2005**, 127, 14473.
- [77] D. A. Herold, K. Keil, D. E. Bruns, *Biochemical Pharmacology*, **1989**, 38, 73.
- [78] M. Shen, L. Martinson, M. S. Wagner, D. G. Castner, B. D. Ratner, T. A. Horbett, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, **2002**, 13, 367.
- [79] L. Li, S. Chen, S. Jiang, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, **2007**, 18, 1415.
- [80] M. Ulbricht, *Polymer*, **2006**, 47, 2217.
- [81] D. He, M. Ulbricht, *Journal of Materials Chemistry*, **2006**, 16, 1860.
- [82] J. Pieracci, J. V. Crivello, G. Belfort, *Journal of Membrane Science*, **1999**, 156, 223.
- [83] J. Pieracci, J. V. Crivello, G. Belfort, *Chemistry of Materials*, **2002**, 14, 256.
- [84] M. Taniguchi, G. Belfort, *Journal of Membrane Science*, **2004**, 231, 147.
- [85] H. Yamagishi, J. V. Crivello, G. Belfort, *Journal of Membrane Science*, **1995**, 105, 237.
- [86] H. Yamagishi, J. V. Crivello, G. Belfort, *Journal of Membrane Science*, **1995**, 105, 249.
- [87] M. Ulbricht, M. Riedel, U. Marx, *Journal of Membrane Science*, **1996**, 120, 239.
- [88] M. Ulbricht, H. Matuschewski, A. Oechel, H.-G. Hicke, *Journal of Membrane Science*, **1996**, 115, 31.
- [89] M. Ulbricht, K. Richau, H. Kamusewitz, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **1998**, 138, 353.
- [90] H. Susanto, M. Ulbricht, *Langmuir*, **2007**, 23, 7818.
- [91] H. H. Himstedt, H. Du, K. M. Marshall, S. R. Wickramasinghe, X. Qian, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **2013**, 52, 9259.
- [92] T. Peng, Y. L. Cheng, *Journal of Applied Polymer Science*, **1998**, 70, 2133.
- [93] F. Tomicki, D. Krix, H. Nienhaus, M. Ulbricht, *Journal of Membrane Science*, **2011**, 377, 124.
- [94] A. Friebe, M. Ulbricht, *Macromolecules*, **2009**, 42, 1838.

- [95] A. B. Lowe, C. L. McCormick, Stimuli-Responsive Water Soluble and Amphiphilic Polymers, Vol. 780, American Chemical Society, **2000**.
- [96] J. Valencia, I. F. Piérola, Journal of Polymer Science B, Polymer Physics, **2007**, *45*, 1683.
- [97] B. Lebreton, A. Brown, R. van Reis, Biotechnology and Bioengineering, **2008**, *100*, 964.
- [98] M. Kumar, M. Ulbricht, Journal of Membrane Science, **2013**, *448*, 62.
- [99] Z. P. Zhao, Z. Wang, S. C. Wang, Journal of Membrane Science, **2003**, *217*, 151.
- [100] T. Chakrabarty, V. K. Shahi, Journal of Membrane Science, **2013**, *444*, 77.
- [101] T. Sata, M. Tanimoto, K. Kawamura, K. Matsusaki, Colloid Polymer Science, **2000**, *278*, 57.
- [102] G. Nasr, M. Barboiu, T. Ono, S. Fujii, J. Lehn, Journal of Membrane Science, **2008**, *321*, 8.
- [103] C. Arnal-Hérault, A. Pasc, M. Michau, D. Cot, E. Petit, M. Barboiu, Angewandte Chemie International Edition, **2007**, *46*, 8409.
- [104] C. Fänger, H. Wack, M. Ulbricht, Macromolecular Bioscience, **2006**, *6*, 393.
- [105] A. M. Lowman, N. A. Peppas, Macromolecules, **1997**, *30*, 4959.
- [106] T. Canal, N. A. Peppas, Journal of Biomedical Materials Research, **1989**, *23*, 1183.
- [107] T. Uhlich, G. Tomaschewski, H. Komber, Reactive and Functional Polymers, **1995**, *28*, 55.
- [108] U. Langenhagen, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, **2008**.
- [109] R. J. Hunter, Zeta Potential in Colloid Science, Academic Press, London, **1981**.
- [110] D. Möckel, E. Staude, M. Dal-Cin, K. Darcovich, M. Guiver, Journal of Membrane Science, **1998**, *145*, 211.
- [111] E. M. Berndt, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, **2010**.
- [112] J. M. Schwuger, Lehrbuch der Grenzflächenchemie, Thieme Verlag, Stuttgart, **1996**.
- [113] A. Yaroshchuk, T. Luxbacher, Langmuir, **2010**, *26*, 10882.
- [114] H. G. Elias, Makromoleküle: Chemische Struktur und Synthesen, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [115] L. Palacio, J. I. Calvo, P. Prádanos, A. Hernández, P. Väisänen, M. Nyström, Journal of Membrane Science, **1999**, *152*, 189.
- [116] S.P.L. Sörensen, Biochemische Zeitschrift, **1909**, *21*, 131.
- [117] persönliche Korrespondenz Dr. Volkmar Thom, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen, **2011**.
- [118] M. N. Sarbolouki, Separation Science and Technology, **1982**, *17*, 381.
- [119] B. Tang, C. Zou, P. Wu, Journal of Membrane Science, **2010**, *365*, 276.
- [120] H. J. Lee, J. Won, H. Lee, Y. S. Kang, Journal of Membrane Science, **2002**, *196*, 267.
- [121] I. Ahmed, A. Idris, Journal of Applied Polymer Science, **2010**, *115*, 1428.
- [122] C. K. Colton, K. A. Smith, E. W. Merrill, J. Reece, Chemical Engineering Progress Symposium Series, **1970**, *66*, 85.
- [123] C. K. Colton, K. A. Smith, E. W. Merrill, S. Friedman, Journal of the American Institute of Chemical Engineers, **1971**, *17*, 800.
- [124] A. B. Laconi, C. K. Colton, Nature, **1971**, *230*, 388.
- [125] C. K. Colton, K. A. Smith, E. W. Merrill, P. C. Farrell, Journal of Biomedical Materials Research, **1971**, *5*, 459.
- [126] S. Karoor, J. Molina, C. R. Buchmann, C. Colton, J. S. Logan, L. W. Henderson, Biotechnology and Bioengineering, **2003**, *81*, 134.

- [127] S. G. Schultz, *The Journal of General Physiology*, **1961**, *44*, 1189.
- [128] A. C. Sharma, T. Jana, R. Kesavamoorthy, L. Shi, M. A. Virji, D. N. Finegold, S. A. Asher, *Journal of the American Chemical Society*, **2004**, *126*, 2971.
- [129] R. Wayne, *Plant cell biology*, Academic Press, Amsterdam, **2009**.
- [130] H. Soo Choi, W. Liu, P. Misra, E. Tanaka, J. P. Zimmer, B. Itty Ipe, M. G. Bawendi, J. V. Frangioni, *Nature Biotechnology*, **2007**, *25*, 1165.
- [131] G. L. Amidon, P. I. Lee, E. M. Topp, *Transport processes in pharmaceutical systems*, M. Dekker, New York, **2000**.
- [132] H. Ohya, S. Shiki, H. Kawakami, *Journal of Membrane Science*, **2009**, *326*, 293.
- [133] E. Salehi, S. S. Madaeni, *Applied Surface Science*, **2014**, *288*, 537.
- [134] I. C. Kim, K. H. Lee, *Journal of Membrane Science*, **2004**, *230*, 183.
- [135] M. M. Nasef, E. S. A. Hegazy, *Progress in Polymer Science*, **2004**, *29*, 499.
- [136] C. Xu, W. Huang, Y. Zhou, D. Yan, S. Chen, H. Huang, *Radiation Physics and Chemistry*, **2012**, *81*, 426.
- [137] K. Nagase, M. Watanabe, A. Kikuchi, M. Yamato, T. Okano, *Macromolecular Bioscience*, **2011**, *11*, 400.
- [138] R. Bernstein, E. Antón, M. Ulbricht, *ACS Applied Materials & Interfaces*, **2012**, *4*, 3438.
- [139] R. Bernstein, E. Antón, M. Ulbricht, *Journal of Membrane Science*, **2013**, *427*, 129.
- [140] M. S. Mohy Eldin, A. de Maio, S. Di Martino, U. Bencivenga, S. Rossi, A. D'uva, F. S. Gaeta, D. G. Mita, *Advances in Polymer Technology*, **1999**, *18*, 109.
- [141] C. Geismann, *Dissertation*, Universität Duisburg-Essen, **2007**.
- [142] Q. Yang, M. Ulbricht, *Chemistry of Materials*, **2012**, *24*, 2943.



## 9. Anhang

## 9.1 Zusätzliche Abbildungen

### 9.1.1 Kombinierte Diffusionsmessungen

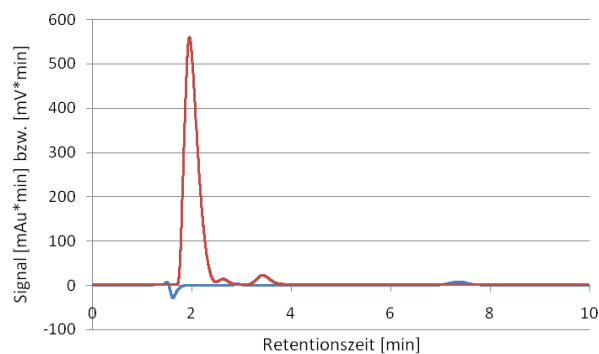


Abb. 9.1: HPLC Chromatogramm (RI und UV Detektion) zur Konzentrationsbestimmung bei kombinierten Diffusionsmessungen.

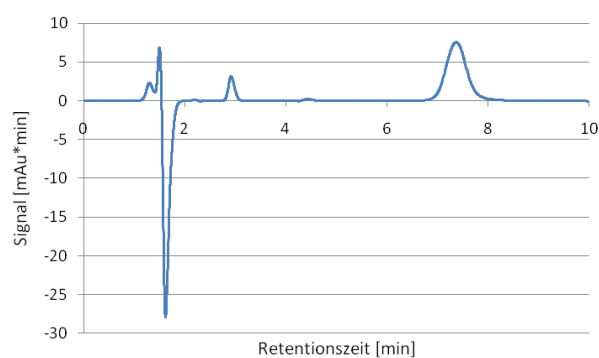


Abb. 9.2: HPLC Chromatogramm (nur UV) zur Konzentrationsbestimmung. Retentionszeiten: Kreatinin: 2,9 min; Vitamin B<sub>12</sub>: 7,2 min.

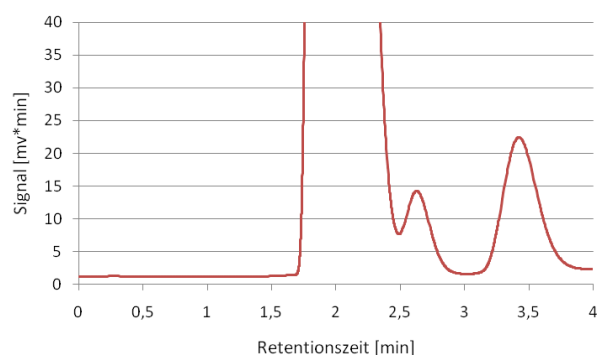


Abb. 9.3: HPLC Chromatogramm (nur RI) zur Konzentrationsbestimmung. Retentionszeiten: Harnstoff 2,6 min; Glukose: 3,4 min.

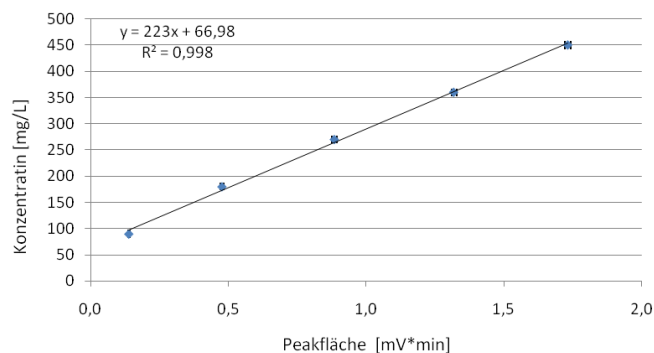


Abb. 9.4: Kalibrationsgerade von Harnstoff.

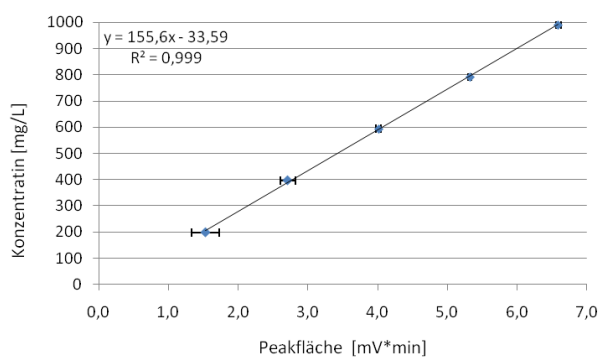


Abb. 9.5: Kalibrationsgerade von Glukose.

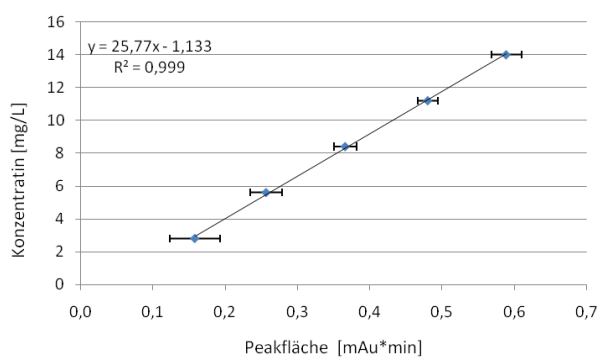
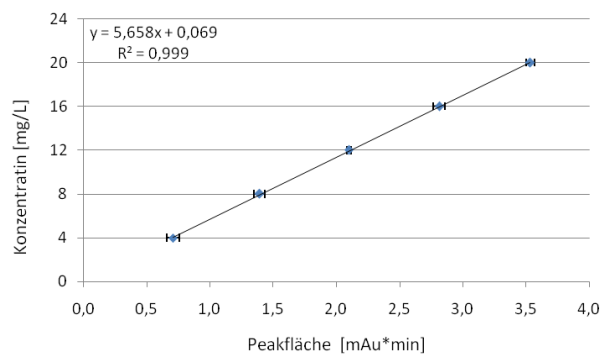


Abb. 9.6: Kalibrationsgerade von Kreatinin.

Abb. 9.7: Kalibrationsgerade von Vitamin B<sub>12</sub>.

### 9.1.2 Kompositmembranen mit eingestelltem isoelektrischen Punkt und variierter Größenausschlussgrenze

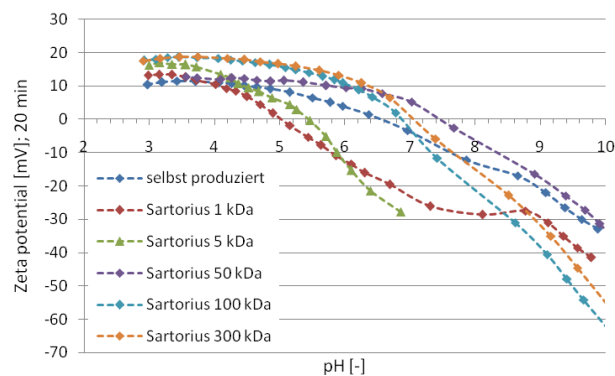


Abb. 9.8: Zetapotentialverlauf kommerzieller PES Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht; Belichtungszeit = 20 min.

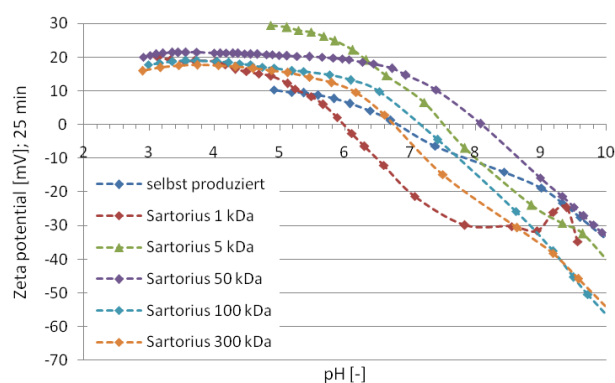


Abb. 9.9: Zetapotentialverlauf kommerzieller PES Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht; Belichtungszeit = 25 min.

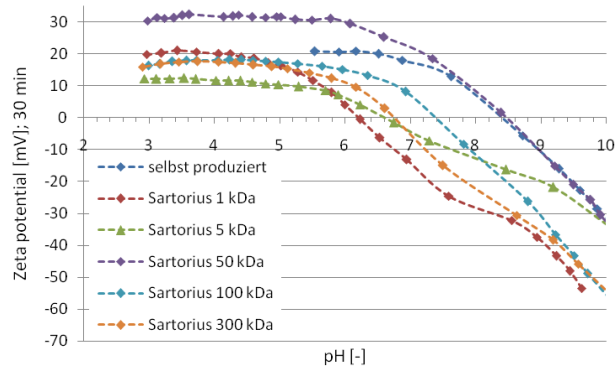


Abb. 9.10: Zetapotentialverlauf kommerzieller PES Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht; Belichtungszeit = 30 min.

### 9.1.3 Proteinseparation mit Kompositmembranen mit amphoterer Ionenaustauscherschicht

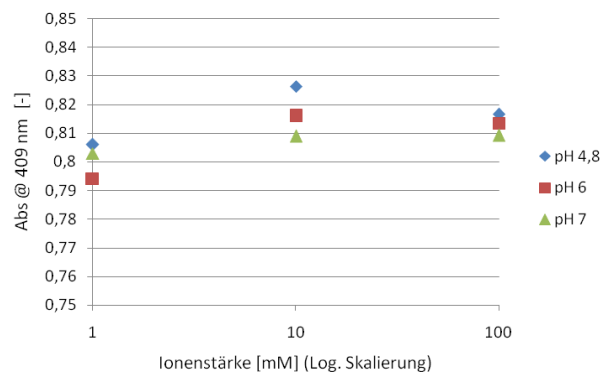


Abb. 9.11: UV-Absorptionsmaximum von Myoglobin in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Salzkonzentration.

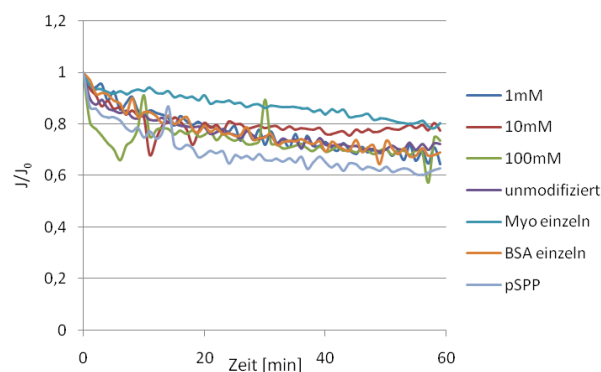


Abb. 9.12: Flussabfall für die verschiedenen Membranen und Proteinlösungen bei einem pH-Wert von 6,0.

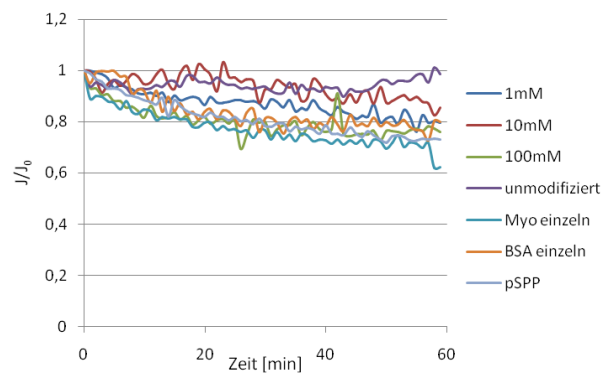


Abb. 9.13: Flussabfall für die verschiedenen Membranen und Proteinlösungen bei einem pH-Wert von 7,0.

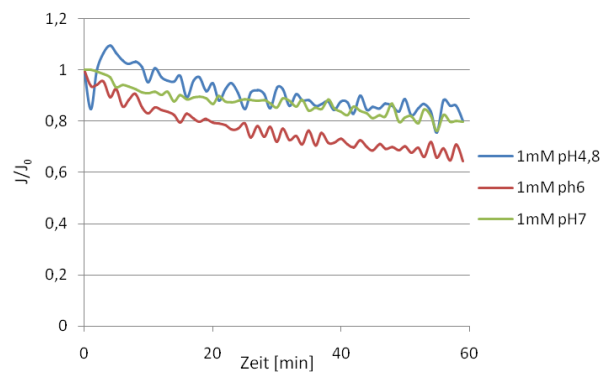


Abb. 9.14: Flussabfall für die amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembranen unter Verwendung der Proteinmischung bei einer Ionenstärke von 1 mM.

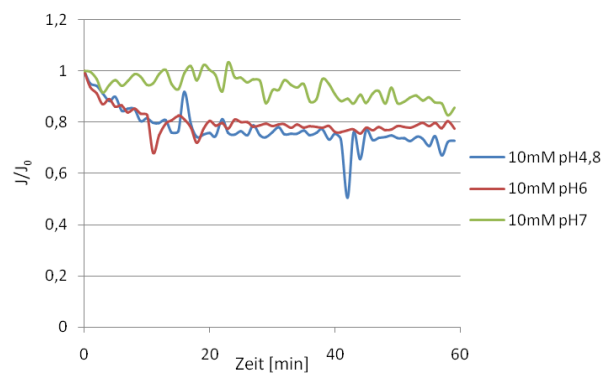


Abb. 9.15: Flussabfall für die amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembranen unter Verwendung der Proteinmischung bei einer Ionenstärke von 10 mM.

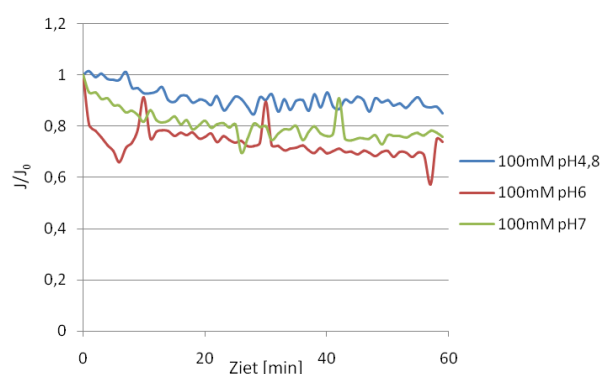


Abb. 9.16: Flussabfall für die amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembranen unter Verwendung der Proteinmischung bei einer Ionenstärke von 100 mM.

## 9.2 Abbildungsverzeichnis

|  |    |
|--|----|
| Abb. 2.1: Idealisierte Modelle einer dichten Membran (links) und einer Porenmembran (rechts) mit $w_{jF}$ und $w_{jP}$ : Massenanteil der Komponente $j$ im Feed bzw. Permeat. <sup>[12]</sup>   | 6  |
| Abb. 2.2: Schematische Darstellung der Ionenverteilung an der Membran-Lösung Grenzfläche und das korrespondierende Potential als Funktion des Abstandes. (Abb. angepasst nach <sup>[12]</sup> )  | 11 |
| Abb. 2.3: Analogiebeziehung des Widerstandmodells. <sup>[12]</sup>   | 12 |
| Abb. 2.4: Dreiphasendiagramm zur Beschreibung der Membranbildung nach dem NIPS Prozess. Abbildung angepasst nach <sup>[35]</sup>   | 15 |
| Abb. 2.5: Einordnung verschiedener Filtrationsverfahren. <sup>[12,36]</sup>  | 17 |
| Abb. 2.6: Größenausschlussprinzip einer porösen Membran. <sup>[35]</sup>   | 18 |
| Abb. 2.7: Darstellung des FERRY-RENNIN-Modells. <sup>[35]</sup>  | 19 |
| Abb. 2.8: Schematische Übersicht über den Verlauf des Flussverlustes. <sup>[42]</sup>  | 20 |
| Abb. 2.9: Schematische Darstellung der Konzentrationspolarisation. <sup>[13]</sup>   | 22 |
| Abb. 2.10: Schematische Darstellung der Bildung von Membran-Fouling. <sup>[35]</sup>   | 26 |
| Abb. 2.11: Einfluss des Partikeldurchmessers auf das Membran-Fouling. <sup>[59,60]</sup>   | 27 |
| Abb. 2.12: Erweitertes Widerstandsmodell bestehend aus Membran und Membran-Fouling.  | 28 |
| Abb. 2.13: <i>Grafting-from</i> Mechanismus an einer PES-Membran mit AMPS.   | 31 |
| Abb. 2.14: UV-grafting von pSPP an einer bereits mit <i>t</i> -Amingruppen modifizierten Membranoberfläche. <sup>[81]</sup>  | 32 |
| Abb. 2.15: Schematische Übersicht der möglichen Pfropfungskombinationen von Polyelektrolyten; a) <i>poly</i> -zwitterionisch; b) <i>poly</i> -ampholytisch; c) gemischt <i>poly</i> -kationisch und <i>poly</i> -anionisch; d) <i>poly</i> -anionisch; | 34 |
| e) <i>poly</i> -kationisch. <sup>[21]</sup>  | 34 |

|  |    |
|--|----|
| Abb. 2.16: Schematische Darstellung des Polyelektrolyteffekts. <sup>[95]</sup>   | 35 |
| Abb. 2.17: Schematische Darstellung des anti-Polyelektrolyteffekts. <sup>[95]</sup>  | 35 |
| Abb. 3.1: Allgemeines Konzept zur Herstellung einer kaliumpermeablen Barrieremembran.  | 42 |
| Abb. 3.2: Strukturformel von a: DMAPAA; b: AMPS.   | 43 |
| Abb. 3.3: Strukturformel von a: SPP; b: 4-Hydroxybenzophenon.  | 44 |
| Abb. 4.1: Strukturformel bzw. Wiederholungseinheit von a: NMP; b: PES; c: PVP.   | 47 |
| Abb. 4.2: Schematischer Aufbau zur Membranfunktionalisierung.  | 49 |
| Abb. 4.3: Schematischer Aufbau einer Diffusionsmessung mit Temperierbad. <sup>[108]</sup>  | 54 |
| Abb. 4.4: Exemplarischer zeitlicher Verlauf der Kaliumkonzentration während einer Diffusionsmessung.   | 56 |
| Abb. 4.5: Schematische Darstellung der Ladungsverteilung an einer mit Elektrolyt überströmten Membranoberfläche und die resultierenden Potentialverläufe. <sup>[110]</sup>   | 57 |
| Abb. 4.6: Messaufbau der verwendeten Überströmungszelle zur Bestimmung des Zetapotentials. <sup>[113]</sup>  | 60 |
| Abb. 4.7: Bestimmung des Kontaktwinkels mit der „captive bubble“ Methode.<br>$\gamma$ = Grenzflächenenergie zwischen sv: Probe/Luft; lv: Wasser/Luft; sl: Probe/Wasser. <sup>[9,114]</sup>   | 61 |
| Abb. 4.8: Schematische Darstellung eines <i>Dead-End</i> -Filtrationsaufbau.   | 61 |
| Abb. 4.9: Skizze des Membranhalters zur Durchführung von <i>Fouling</i> -Experimenten.   | 62 |
| Abb. 4.10: Molmassenverteilung der Dextranlösung zur Bestimmung des <i>Cut-Offs</i> .  | 64 |
| Abb. 4.11: Ellipsometriemessplatz; links: Foto, rechts: Skizze.  | 67 |
| Abb. 5.1: REM Aufnahmen (Querschnitt) der verwendeten Kommerziellen Membranen.   | 73 |
| Abb. 5.2: Kontaktwinkel ( <i>captive bubble mode</i> ) der kommerziellen UF-Membranen.   | 74 |
| Abb. 5.3: Übersicht der Zetapotentialverläufe kommerzieller PES UF-Membranen.  | 75 |
| Abb. 5.4: Isoelektrischer Punkt der kommerziellen PES UF-Membranen.  | 75 |
| Abb. 5.5: Abhängigkeit des ermittelten Kaliumflusses von der Membrandicke.   | 76 |
| Abb. 5.6: Abhängigkeit des Kaliumflusses von der Membrandicke. Blau: Berechnet mit der Oberflächenporosität (5%); rot: Berechnet mit der Gesamtporosität (variierende Werte).<br>Anmerkung: Zum Teil sind die Fehlerbalken kleiner als der dargestellte Datenpunkt, wodurch nicht alle Fehlerbalken optisch sichtbar sind. | 77 |
| Abb. 5.7: Ermittelte effektive Kaliumdiffusionskoeffizienten der kommerziellen Membranen.  | 78 |
| Abb. 5.8: Einfluss des LiBr Anteils auf die resultierende Membranstruktur.   | 81 |
| Abb. 5.9: Verlauf von Dextran Rückhalt, Viskosität und Wasserpermeabilität der produzierten Membranen in Bezug zum LiBr Gehalt der Dope-Lösung.  | 82 |



|   |     |
|---|-----|
| Abb. 5.10: Schematische Aufsicht auf eine gerakelte Membran mit Ort der Probenentnahme. ....  | 83  |
| Abb. 5.11: Reproduzierbarkeit der Membranpräparation. ....  | 84  |
| Abb. 5.12: Siebkurve der selbstproduzierten Basismembran. ....  | 85  |
| Abb. 5.13: Funktionalisierungsgrad der Kompositmembranvariationen. ....   | 86  |
| Abb. 5.14: Kontaktwinkel der synthetisierten Hydrogel-Kompositmembranen in Abhängigkeit der Monomerkonzentration und der Belichtungszeit. ....  | 87  |
| Abb. 5.15: Zetapotentialverläufe der Hydrogel-Kompositmembranen. ....   | 88  |
| Abb. 5.16: Zetapotentialverläufe der Hydrogel Kompositmembranen mit DMAPAA/AMPS Mischungen von 60/40 und 55/45 zur Anpassung des IEPs. ....   | 89  |
| Abb. 5.17: Zetapotential von Hydrogel Kompositmembranen mit einer Mischung von 53/47 mol% zur Einstellung des IEP. ....   | 90  |
| Abb. 5.18: Zetapotential von selbst produzierten PES Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht. ....  | 91  |
| Abb. 5.19: Kaliumdiffusionskoeffizienten der modifizierten Sartorius 5 kDa Membranen. ....  | 92  |
| Abb. 5.20: Effektiver Kaliumdiffusionskoeffizient der optimierten, selbst produzierten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembran. ....  | 92  |
| Abb. 5.21: Direkter Vergleich der Zetapotentialverläufe von unmodifizierten und modifizierten selbst produzierten PES Membranen mit der pH abhängigen Kaliumdiffusion. ....                           | 93  |
| Abb. 5.22: Vergleich des Kaliumdiffusionskoeffizienten (a) und des Kalium Flusses (b) für unmodifizierte und modifizierte Sartorius 5 kDa Membranen (blau) und selbst produzierte Membran (rot). .... | 94  |
| Abb. 5.23: <i>Fouling</i> -Beständigkeit für modifizierte und unmodifizierte selbst produzierte PES Membranen. ....   | 95  |
| Abb. 5.24: Gemessene Schichtdicke der gegrasteten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht auf PES gecoateten Si-Wafern mit Hilfe der Ellipsometrie. ....  | 97  |
| Abb. 5.25: <i>Cut-Off</i> Werte der unmodifizierten und modifizierten Basismembran. ....  | 98  |
| Abb. 5.26: UV-Absorptionsspektren diverser Photoinitiatoren und UV Transmissionsspektrum des UV Filters. ....   | 99  |
| Abb. 5.27: Abhängigkeit des Quellgrades von dem Wasser/Acetonitril Mischungsverhältnis. ....  | 100 |
| Abb. 5.28: DG-Werte der 6 verschiedenen <i>p</i> SPP Membranmodifizierungen. ....   | 101 |
| Abb. 5.29: Kontaktwinkel ( <i>captive bubble mode</i> ) der zweifach modifizierten Basismembran. ....   | 102 |
| Abb. 5.30: Übersicht der Zetapotentialverläufe der zweifach modifizierten selbst präparierten Kompositmembranen. a) 15 min. Belichtungszeit; b) 25 min. Belichtungszeit. ....                         | 103 |

|  |     |
|--|-----|
| Abb. 5.31: Zetapotentialverlauf der Referenzmembran sowie der einfach und zweifach modifizierten Basismembran bei der Messung mit KCl und $\text{KClO}_4$ .....  | 104 |
| Abb. 5.32: Effektiver Kaliumdiffusionskoeffizient der zweifach modifizierten Membranen vor (dunklere Säulen) und nach (hellere Säulen) FBS- <i>Fouling</i> .....   | 105 |
| Abb. 5.33: <i>Fouling</i> -Beständigkeit der zweifach modifizierten Kompositmembranen.....   | 106 |
| Abb. 5.34: Größenausschlussgrenze der drei verschiedenen Membranentwicklungsstufen. ....   | 108 |
| Abb. 5.35: AFM Aufnahmen der Sartorius 5 kDa Membran sowie der drei verschiedenen Membranentwicklungsstufen. a) Sartorius 5 kDa; b) Basismembran; c) 1. Modifizierung; d) 2. Modifizierung.....  | 109 |
| Abb. 5.36: Effektive Diffusionskoeffizienten repräsentativer Blutbestandteile für modifizierte und unmodifizierte Basismembranen. Anmerkung zu Abb. 5.36: Aufgrund des großen Wertebereiches und der damit gewählten logarithmischen Auftragung werden keine Fehlerbalken dargestellt. . | 111 |
| Abb. 5.37: Selektivität im Bezug auf Kalium basierend auf den Diffusionskoeffizienten der verschiedenen Membranentwicklungsstufen für repräsentative Blutbestandteile. ....  | 111 |
| Abb. 5.38: Substanzflüsse repräsentativer Blutbestandteile für modifizierte und unmodifizierte Basismembranen. Anmerkung zu Abb. 5.38: Aufgrund des großen Wertebereiches und der dadurch gewählten logarithmischen Auftragung werden keine Fehlerbalken dargestellt. ....               | 112 |
| Abb. 5.39: Membranselektivität für Kalium basierend auf den Substanzflüssen. ....  | 113 |
| Abb. 5.40: Effektive Diffusionskoeffizienten in Abhängigkeit der Crosslinker-Konzentration. ....   | 113 |
| Abb. 5.41: Änderung des effektiven Kaliumdiffusionskoeffizienten mit Variation der Crosslinker-Konzentration. ....   | 114 |
| Abb. 5.42: Berechnete Maschenweite der Bulkhydrogelen mit identischer Zusammensetzung entsprechend der quervernetzten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht der Kompositmembranen. ....  | 115 |
| Abb. 5.43: Selektivität der quervernetzten amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht Kompositmembranen in Bezug zur Crosslinker-Konzentration.....   | 115 |
| Abb. 5.44: Ermittelte Diffusionskoeffizienten für Kalium und Natrium aus kombinierten und einzelnen Diffusionsmessungen. ....  | 116 |
| Abb. 5.45: Effektive Kaliumdiffusionskoeffizienten von sterilisierten und unsterilisierten Sartorius 5 kDa Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht. ....   | 118 |
| Abb. 5.46: Kaliumdiffusionskoeffizienten vor/nach EO-Sterilisation von 5 konservierten, selbst produzierten zweifach modifizierten Hydrogel-Kompositmembranen. ....  | 119 |
| Abb. 5.47: <i>Fouling</i> -Beständigkeit von 5 EO-Sterilisierten, zweifach modifizierten Kompositmembranen. ....   | 119 |
| Abb. 5.48: Kaliumdiffusionskoeffizient vor/nach Glycerinkonservierung von zweifach modifizierten, selbst produzierten Kompositmembranen. ....  | 120 |

|  |     |
|--|-----|
| Abb. 5.49: Explantierter Membranträger mit zwei Membranproben. Vorne: 1. Modifizierung; hinten: Basismembran .....   | 121 |
| Abb. 5.50: Explantierter Membranträger mit zwei Membranproben der zweifach modifizierten Kompositmembran .....   | 121 |
| Abb. 5.51: Zetapotentialverlauf der 6 verwendeten PES Membranen mit einer Belichtungszeit von 15 min. ....   | 123 |
| Abb. 5.52: Abhängigkeit des isoelektrischen Punktes von der Belichtungszeit für 6 verschiedene PES UF-Membranen.....   | 123 |
| Abb. 5.53: Zetapotential der Hydrogel-Kompositmembranen zur Proteinultrafiltration. ....   | 125 |
| Abb. 5.54: Ermittlung des kritischen Flusses/Druckes für modifizierte PES 100 kDa Membranen. ....  | 126 |
| Abb. 5.55: Hydrodynamische Durchmesser von Myoglobin (links, blau) und BSA (rechts, rot) in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Ionenstärke. ....                                   | 127 |
| Abb. 5.56: Quellgrad der Referenzbulkhydrogele bei den entsprechenden pH-Werten und Ionenstärken. ....   | 128 |
| Abb. 5.57: Myoglobin Rückhalt (aus Proteinmischung) in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Ionenstärke. Pufferkonzentration = 20 mM. ....   | 129 |
| Abb. 5.58: Myoglobin Rückhalt (aus Proteinmischung) für modifizierte und unmodifizierte PES 100 kDa Membranen. ....  | 130 |
| Abb. 5.59: BSA Rückhalt (aus Proteinmischung) in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Ionenstärke. Pufferkonzentration = 20 mM. ....   | 131 |
| Abb. 5.60: BSA Rückhalt (aus Proteinmischung) für modifizierte und unmodifizierte PES 100 kDa Membranen. ....  | 131 |
| Abb. 5.61: Zeitlichen Verlauf des Membranflusses für die verschiedenen Membranen bzw. Proteinlösungen bei einem pH-Wert von 4,8. ....  | 132 |
| Abb. 5.62: Flusswiederherstellung der Kompositmembranen nach NaOH Reinigung.....   | 133 |
| Abb. 5.63: Flusswiederherstellung nach Einzelproteinultrafiltration. Blau: Myoglobin; rot: BSA; dunkle Säulen: modifizierte Membranen; helle Säulen: unmodifizierte Membranen..... | 134 |
| Abb. 6.1: REM Aufnahmen der Membranoberfläche. a: Dope-Lösung entsprechend 1. Ansatz b: Dope-Lösung entsprechend 4. Ansatz. Vergrößerung jeweils 50.000.....                       | 140 |
| Abb. 6.2: Resultierende Membranstruktur bei der Verwendung von a) 0 w% Li; b) 4 w% Li. ....  | 141 |
| Abb. 6.3: Schematische Darstellung einer möglichen Radikalübertragungsreaktion von DMAPAA (R = Rest der Kette). ....   | 144 |
| Abb. 6.4: Kontaktwinkel vs. DG-Wert der Modifikationen 100 mM/15 min; 100 mM/25 min; 150 mM/ 15 min; 150 mM-25 min. ....   | 146 |

|   |     |
|---|-----|
| Abb.6.5: Schematische Darstellung des Einflusses der Porengröße auf die Radikaldichte.....  | 148 |
| Abb. 6.6: REM Aufnahme der trennselektiven Oberflächenschicht. a) Sartorius 5 kDa; b) selbst produzierte Membran. Vergrößerung je 50.000. ....    | 150 |
| Abb. 6.7: Schematische Darstellung der Hydrogelbeschichtung mit der Anlagerung von Proteinen nach dem Fouling mit Bildung von „Kanälen“. ....     | 159 |
| Abb.6.8: Schematische Darstellung der unvollständigen pSPP Bedeckung der amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht. ....                        | 161 |
| Abb. 6.9: Schematische Darstellung des Quellverhaltens von pSPP in Anwesenheit von KCl und $\text{KClO}_4$ . ....                                 | 162 |
| Abb. 6.10: REM Bilder der unmodifizierten 100 kDa Membran. a) Querschnitt; b) Oberfläche....  | 167 |
| Abb. 6.11: Vergleich von unmodifizierten und modifizierten PES 100 kDa Membranen bei der pH-Wert abhängigen Ultrafiltration von Myoglobin. ....   | 172 |
| Abb. 9.1: HPLC Chromatogramm (RI und UV Detektion) zur Konzentrationsbestimmung bei kombinierten Diffusionsmessungen. ....                        | 187 |
| Abb. 9.2: HPLC Chromatogramm (nur UV) zur Konzentrationsbestimmung. Retentionszeiten: Kreatinin: 2,9 min; Vitamin B <sub>12</sub> : 7,2 min. .... | 187 |
| Abb. 9.3: HPLC Chromatogramm (nur RI) zur Konzentrationsbestimmung. Retentionszeiten: Harnstoff 2,6 min; Glukose: 3,4 min. ....                   | 187 |
| Abb. 9.4: Kalibrationsgerade von Harnstoff. ....  | 188 |
| Abb. 9.5: Kalibrationsgerade von Glukose.....   | 188 |
| Abb. 9.6: Kalibrationsgerade von Kreatinin. ....  | 188 |
| Abb. 9.7: Kalibrationsgerade von Vitamin B <sub>12</sub> . ....   | 189 |
| Abb. 9.8: Zetapotentialverlauf kommerzieller PES Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht; Belichtungszeit = 20 min.....         | 189 |
| Abb. 9.9: Zetapotentialverlauf kommerzieller PES Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht; Belichtungszeit = 25 min.....         | 189 |
| Abb. 9.10: Zetapotentialverlauf kommerzieller PES Membranen mit amphoterer Hydrogel-Ionenaustauscherschicht; Belichtungszeit = 30 min.....        | 190 |
| Abb. 9.11: UV-Absorptionsmaximum von Myoglobin in Abhängigkeit des pH-Wertes und der Salzkonzentration. ....                                      | 190 |
| Abb. 9.12: Flussabfall für die verschiedenen Membranen und Proteinlösungen bei einem pH-Wert von 6,0. ....  | 190 |
| Abb. 9.13: Flussabfall für die verschiedenen Membranen und Proteinlösungen bei einem pH-Wert von 7,0. ....  | 191 |

|   |     |
|---|-----|
| Abb. 9.14: Flussabfall für die amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht<br>Kompositmembranen unter Verwendung der Proteinmischung bei einer Ionenstärke von 1 mM.<br>.....   | 191 |
| Abb. 9.15: Flussabfall für die amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht<br>Kompositmembranen unter Verwendung der Proteinmischung bei einer Ionenstärke von 10 mM.<br>.....  | 191 |
| Abb. 9.16: Flussabfall für die amphoteren Hydrogel-Ionenaustauscherschicht<br>Kompositmembranen unter Verwendung der Proteinmischung bei einer Ionenstärke von 100 mM.<br>..... | 192 |

### 9.3 Tabellenverzeichnis

|   |     |
|---|-----|
| Tab. 1: Übersicht der ausgewählten Parameter zur Membranherstellung und Modifizierung. ....             | XV  |
| Tab. 4.1 Zusammensetzung der Membrangießlösung. ....  | 47  |
| Tab. 4.2: Zusammensetzung von Bulkhydrogelen. ....  | 51  |
| Tab. 4.3: Verwendete Substanzen, Detektionsarten und Messintervalle zur Diffusionsmessung...            | 55  |
| Tab. 4.4: Feedzusammensetzung zur Bestimmung des <i>Cut-Offs</i> .....                                  | 63  |
| Tab. 4.5: Typenbezeichnung der HPLC Komponenten. ....   | 65  |
| Tab. 5.1: Übersicht kommerzieller PES UF-Membranen. ....  | 72  |
| Tab. 5.2: Ermittelte effektive Kaliumdiffusionskoeffizienten der kommerziellen Membranen.....           | 79  |
| Tab. 5.3: Zusammensetzung der Dope-Lösungen. ....   | 80  |
| Tab. 5.4: Rückhalt von Dextran 10 kDa zur Ermittlung der Membranhomogenität. ....                       | 83  |
| Tab.5.5: Effektive $K^+$ Diffusionskoeffizienten der selbstpräparierten Basismembran.....               | 85  |
| Tab. 5.6: Quellgrad und Maschenweite der Referenz Bulkhydrogele.....                                    | 96  |
| Tab. 5.7: UV-Absorption der Permeat/Feedlösung nach FBS Diffusion. ....                                 | 107 |
| Tab. 5.8: Oberflächenrauigkeiten der vier verschiedenen Membranen. ....                                 | 109 |
| Tab.5.9: Hydrodynamische Radien, Molmassen und Startgradienten repräsentativer<br>Blutbestandteile..... | 110 |
| Tab. 5.10: Nettoladung der Proteine und der Membran in Abhängigkeit des pH-Wertes. ....                 | 126 |
| Tab. 6.1: Dynamische Viskosität der NMP/Aceton Mischungen bei 20 °C.....                                | 141 |

## 9.4 Liste der Verwendeten Chemikalien

| Substanz  | Reinheit           | Hersteller         |
|---|--------------------|--------------------|
| 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure (AMPS)                       | 99 %               | Sigma Aldrich      |
| 3-Sulfopropyltrimethyl-3-methacrylamidopropylammoniumhydroxid (SPP) | 96 %               | Sigma Aldrich      |
| 4-Hydroxybenzophenon  | 98 %               | Sigma Aldrich      |
| N-Methyl-2-pyrrolidon (NMP)   | 99,5 %             | Merck              |
| N,N'-Methylenbisacrylamid (MBAA)                                    | 99,5 %             | Sigma Aldrich      |
| N,N-3-Dimethylaminopropylacrylamid (DMAPAA)                         | >98 %              | TCI                |
| N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin (TEMED)                            | 99 %               | Acros Organics     |
| Aceton  | p.a.               | AppliChem          |
| Albumin (aus Rinderserum) (BSA)                                     | > 98 %             | Sigma Aldrich      |
| Acetonitril   | 99,9 % for HPLC    | VWR                |
| Ameisensäure  | >98 %              | Sigma Aldrich      |
| Ammoniumacetat  | 99,99 %            | Sigma Aldrich      |
| Ammoniumperoxodisulfat  | 98 %               | Acros Organics     |
| Ethanol   | p.a.               | Normapur           |
| Dextran 4 (4.000 - 6.000 Da)  | technisch          | Serva              |
| Dextran 8 (8.000 - 12.000 Da)                                       | technisch          | Serva              |
| Dextran T10   | technisch          | Pharmacia          |
| Dextran 15 (15.000 - 20.000 Da)                                     | technisch          | Serva              |
| Dichlormethan (DCM)   | 99%                | Fischer Scientific |
| Dipicolinsäure  | 99,9 %             | Merck              |
| Fetales Kälberserum (FBS)   |                    | Gibco              |
| Glukose   | >99,5 %            | Sigma Aldrich      |
| Glycerin  | USP                | Sigma Aldrich      |
| Harnstoff   | >98 %              | Sigma Aldrich      |
| Inhibitor Remover   |                    | Sigma Aldrich      |
| Inulin  |                    | Sigma Aldrich      |
| Kaliumchlorid   | reinst Ph. Eur.    | AppliChem          |
| Kaliumchloridmaßlösung (100 mM)                                     | 12,85 mS/cm @ 25°C | Merck              |
| Kaliumchloridmaßlösung (10 mM)                                      | 1,414 mS/cm @ 25°C | Merck              |
| Kaliumhydroxidmaßlösung   | 1M                 | Bernd Kraft        |
| Kreatinin   | >99 %              | Acros Organics     |
| Lithiumbromid   | >99,5 %            | Sigma Aldrich      |
| Milli-Q-Wasser  | 18 MΩ              | Millipore          |
| Myoglobin (aus Pferdemuskeln)                                       | > 98 %             | Sigma Aldrich      |
| Natriumazid   | >99 %              | Sigma Aldrich      |
| Natriumchlorid  | 99,9 %             | Normapur           |
| Polyethersulfon (PES) E6020P  |                    | BASF               |
| Polyvinylpyrrolidon (PVP)   | 99,9 %             | Fluka              |

|                         |        |                    |
|-------------------------|--------|--------------------|
| Schwefelsäure           | 96 %   | Fischer Scientific |
| Vitamin B <sub>12</sub> | > 98 % | Sigma Aldrich      |
| Wasserstoffperoxid      | 30 %   | AppliChem          |

## 9.5 Publikationsliste

### 9.5.1 Posterpräsentationen

07.2013, Essen (D)

T. Pieper, M. Ulbricht

„Potassium permeable barrier membrane for *in vivo* application“

XXIX EMS Summer School 2013, Essen (Deutschland)

09.2012, London (UK)

T. Pieper, M. Ulbricht

„Potassium permeable barrier membrane for *in vivo* application“

Euromembrane 2012, London (United Kingdom)

07.2011, Amsterdam (NL)

T. Pieper, P.D. Peeva, M. Ulbricht

“Low-fouling Hydrogel Composite Membranes for Protein Ultrafiltration and other Biotechnological Applications”

ICOM 2011, Amsterdam (Niederlande)

### 9.5.2 Fachartikel

P.D. Peeva, T. Knoche, T. Pieper, M. Ulbricht

“Performance of thin-layer hydrogel polyethersulfone composite membranes during dead-end ultrafiltration of various protein solutions”

Ind. Eng. Chem. Res., **2012**, 51 (21), 7231-7241.

P.D. Peeva, T. Knoche, T. Pieper, M. Ulbricht

“Cross-flow ultrafiltration of protein solutions through unmodified and surface functionalized polyethersulfone membranes – Effect of process conditions on separation performance”

Sep.& Pur. Technol., **2012**, 92, 83-92.

P.D. Peeva, T. Pieper, M. Ulbricht

“Tuning the ultrafiltration properties of anti-fouling thin-layer hydrogel polyethersulfone composite membranes by suited crosslinker monomers and photo-grafting conditions”

J. Mem. Sci., **2010**, 362 (1-2), 560-568.



## 9.6 Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.